

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 541 719**

51 Int. Cl.:

C07C 401/00 (2006.01)

A61K 31/593 (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

C07F 7/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2011 E 11836202 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2015 EP 2634171**

54 Título: **Derivado de 23-ino-vitamina D₃**

30 Prioridad:

25.10.2010 JP 2010238524

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.07.2015

73 Titular/es:

**TEIJIN PHARMA LIMITED (100.0%)
2-1, Kasumigaseki 3-chome Chiyoda-ku
Tokyo 100-0013, JP**

72 Inventor/es:

**SAITO, HIROSHI;
KOMIYAMA, MASATO;
OCHIAI, EIJI;
TAKAGI, KENICHIRO;
CHIDA, TAKAYUKI;
FUJITA, MARIKO;
IMAIZUMI, KEIICHIRO y
KANEKO, TOSHIYUKI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 541 719 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivado de 23-ino-vitamina D₃

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo que es útil como un fármaco, a un agente terapéutico que usa el mismo, a una composición farmacéutica que comprende el mismo, y a un intermedio de producción del mismo. Más específicamente, la presente invención se refiere a un derivado de 23-ino-vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo, a una composición farmacéutica que comprende el mismo, a un agente terapéutico que comprende el mismo como un ingrediente activo para la osteoporosis, tumor maligno, psoriasis, hiperparatiroidismo, enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias, artritis reumatoide, diabetes mellitus, hipertensión, alopecia, acné o dermatitis, y a un intermedio de producción del mismo.

Antecedentes de la técnica

15 Los derivados de vitamina D₃ activados regulan la remodelación ósea, que consiste en la formación ósea y la resorción ósea, y muestran al hueso un efecto de aumento de densidad. Así, están siendo usados como un agente terapéutico valioso para la osteoporosis. Sin embargo, estos derivados activos de vitamina D₃, 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ por ejemplo, no muestran necesariamente una cantidad satisfactoria de aumento en la densidad mineral del hueso. Cuando la dosis se aumenta para aumentar la densidad mineral ósea, se da un aumento en un valor de calcio en suero más que el aumento adicional en la densidad mineral ósea, provocando la elevación del valor de calcio en suero en 1 mg/dL o más, un valor considerado como uno de los criterios para la inconveniencia clínica. Así, hay casos ocasionales donde no se obtiene un efecto de aumento de densidad mineral ósea suficiente (Publicación Internacional núm. WO 01/62723).

20 El documento US6410523 se refiere a derivados de vitamina D con afinidad por un receptor de vitamina D y una proteína de unión a vitamina D, para el uso en el tratamiento de enfermedades debido a metabolismo anormal de calcio.

25 El documento US4804502 se refiere a compuestos para el uso en el tratamiento de deficiencias metabólicas de calcio tal como osteoporosis y osteodistrofia renal.

Por lo tanto, hay un serio deseo de un derivado de vitamina D₃ activado que muestre un fuerte efecto de aumento de densidad mineral ósea sin aumentar el valor de calcio en suero. Hasta ahora, se han sintetizado una multitud de derivados de vitamina D₃ en un esfuerzo por obtener dicho derivado, aunque aún no se ha encontrado ningún derivado que tenga un perfil satisfactorio.

30 Compendio de la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo que muestre un efecto farmacológico deseado aislado del efecto de aumento de calcio en sangre.

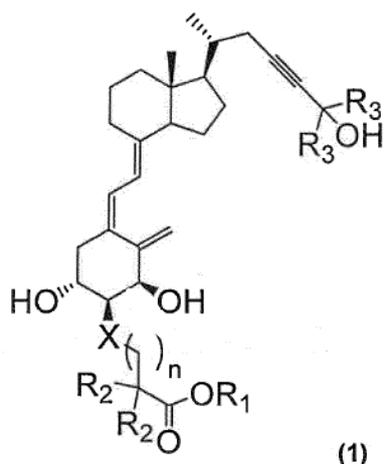
35 Además, un objeto de la presente invención es proporcionar un agente terapéutico para la osteoporosis, tumor maligno, psoriasis, hiperparatiroidismo, enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias, artritis reumatoide, diabetes mellitus, hipertensión, alopecia, acné o dermatitis, que comprende el derivado de vitamina D₃ o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo como un ingrediente activo.

Además, un objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprende el derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo.

40 Aún más, un objeto de la presente invención es proporcionar un intermedio del derivado de vitamina D₃ adecuado para producir el derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo.

Los actuales inventores llevaron a cabo una diligente investigación para resolver los problemas mencionados anteriormente y, como resultado, alcanzaron la siguiente invención.

45 Esto es, la presente invención es un derivado de vitamina D₃ representado por la siguiente fórmula (1) o un solvato medicinalmente aceptable del mismo.



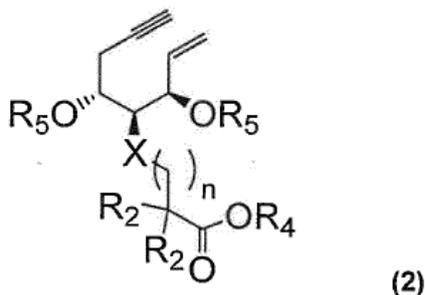
en donde

5 R_1 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquilcarboniloxialquilo con cada alquilo teniendo 1 a 6 átomos de carbono, o un grupo arilcarboniloxialquilo con el arilo teniendo 6 a 10 átomos de carbono y el alquilo teniendo 1 a 6 átomos de carbono; R_2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono o, junto con el otro R_2 y el átomo de carbono al que están unidos, puede formar un grupo alquilo cíclico que tiene 3 a 6 átomos de carbono; R_3 representa un grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono o, junto con el otro R_3 y el átomo de carbono al que están unidos, puede formar un grupo alquilo cíclico que tiene 3 a 6 átomos de carbono; X representa un átomo de oxígeno o un grupo metileno; y n representa un número entero de 1 o 2.

Además, la presente invención es una composición farmacéutica que comprende el derivado de vitamina D_3 representado por la fórmula (1) anterior o un solvato medicinalmente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 Además, la presente invención es un agente terapéutico para una o más enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en osteoporosis, tumor maligno, psoriasis, hiperparatiroidismo, enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias, artritis reumatoide, diabetes mellitus, hipertensión, alopecia, acné y dermatitis, que comprende el derivado de vitamina D_3 representado por la fórmula (1) anterior o un solvato medicinalmente aceptable del mismo como un ingrediente activo.

20 Aún más, la presente invención es un intermedio de producción para el derivado de vitamina D_3 , estando el intermedio representado por la fórmula (2):



en donde R_2 , X y n son iguales que en la fórmula(1) anterior; R_4 representa R_1 en la fórmula (1) anterior, un grupo metoximetilo, un grupo metoxietoximetilo, un grupo tetrahydrofuranilo, un grupo tetrahidropiranilo, o un grupo benciloximetilo; y R_5 representa un grupo protector para un grupo hidroxilo.

25 Según la presente invención, se proporciona un nuevo derivado de vitamina D_3 o un solvato medicinalmente aceptable del mismo, que es efectivo para tratar diversas enfermedades representadas por osteoporosis, tumor maligno, psoriasis, hiperparatiroidismo, enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias, artritis reumatoide, diabetes mellitus, hipertensión, alopecia, acné, dermatitis y similares. Además, el intermedio de producción representado por la fórmula (2) anterior de la presente invención es útil para producir el derivado de vitamina D_3 y similares de la presente invención.

30

Descripción de realizaciones

Los términos usados en la presente invención se definen como sigue.

5 El "grupo alquilo" significa un grupo hidrocarburo alifático lineal, ramificado o cíclico. El grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono incluye específicamente, por ejemplo, un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo isopropilo, un grupo butilo, un grupo isobutilo, un grupo t-butilo, un grupo pentilo, un grupo isopentilo, un grupo hexilo, un grupo ciclopropilo, un grupo ciclopropilmetilo y un grupo ciclohexilo.

El "grupo alquilcarboniloxialquilo" incluye específicamente un grupo t-butilcarboniloximetilo.

El "grupo arilcarboniloxialquilo" incluye específicamente un grupo fenilcarboniloximetilo.

10 En la fórmula (1) anterior, R_1 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquilcarboniloxialquilo con cada alquilo teniendo 1 a 6 átomos de carbono, o un grupo arilcarboniloxialquilo con el arilo teniendo 6 a 10 átomos de carbono y el alquilo teniendo 1 a 6 átomos de carbono. Entre estos, es preferible un átomo de hidrógeno, un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo isopropilo, o un grupo t-butilo; y especialmente preferible es un átomo de hidrógeno o un grupo isopropilo. Como el grupo alquilcarboniloxialquilo, es preferible un grupo t-butilcarboniloximetilo. Además, es preferible como el grupo arilcarboniloxialquilo un grupo fenilcarboniloxialquilo.

15 En la fórmula (1) anterior, R_2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono o, junto con el otro R_2 y el átomo de carbono al que están unidos, puede formar un grupo alquilo cíclico que tiene 3 a 6 átomos de carbono. Entre estos, R_2 es preferiblemente un átomo de hidrógeno o un grupo metilo; o cuando R_2 , junto con el otro R_2 y el átomo de carbono al que están unidos, forma un grupo cicloalquilo, es preferible un grupo ciclopropilo.

20 En la fórmula (1) anterior, R_3 representa un grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono o, junto con el otro R_3 y el átomo de carbono al que están unidos, puede formar un grupo alquilo cíclico. Como el grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono, son preferibles un grupo metilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono, son preferibles un grupo metilo y un grupo etilo. Además, cuando R_3 , junto con el otro R_3 y el átomo de carbono al que están unidos, forma un grupo cicloalquilo, es preferible un grupo ciclopropilo.

Además, en la fórmula (1) anterior, X representa un átomo de oxígeno o un grupo metileno.

Además, en la fórmula (1) anterior, n representa un número entero de 1 o 2, donde especialmente n es preferiblemente 1.

30 Como ejemplos específicos preferidos del derivado de vitamina D₃ representado por la fórmula (1) de la presente invención, pueden mencionarse los compuestos mostrados en la siguiente tabla.

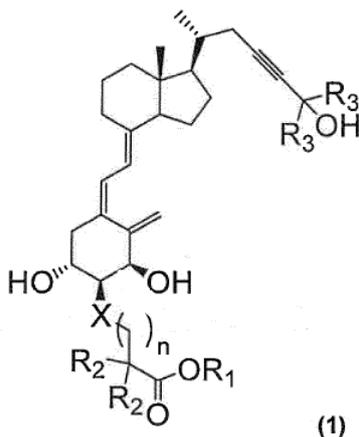


Tabla 1

Compuesto número.	R ₁	R ₂	R ₃	X	n
C-1	Átomo de hidrógeno	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
C-2	Grupo metilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
C-3	Grupo etilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
C-4	Grupo propilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
C-5	Grupo isopropilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
C-6	Grupo t-butilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
C-7	Grupo t-butilcarboniloximetilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
C-8	Grupo fenilcarboniloximetilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
D-1	Átomo de hidrógeno	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Grupo metileno	1
D-2	Grupo metilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Grupo metileno	1
D-3	Grupo etilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Grupo metileno	1
D-4	Grupo propilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Grupo metileno	1
D-5	Grupo isopropilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Grupo metileno	1
D-6	Grupo t-butilo	Átomo de hidrógeno	Grupo metilo	Grupo metileno	1
E-1	Átomo de hidrógeno	Ciclopropilo	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
E-2	Grupo metilo	Grupo metilo	Grupo metilo	Átomo de oxígeno	1
F-1	Átomo de hidrógeno	Átomo de hidrógeno	Grupo etilo	Átomo de oxígeno	1
F-2	Átomo de hidrógeno	Átomo de hidrógeno	ciclopentilo	Átomo de oxígeno	1

Si es necesario, el derivado de vitamina D₃ de la presente invención puede convertirse a un solvato medicinalmente aceptable. Dicho disolvente incluye agua, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, butanol, t-butanol, acetonitrilo, acetona, metiletilcetona, cloroformo, acetato de etilo, dietiléter, t-butil-metil-éter, benceno, tolueno, DMF, DMSO y similares. Especialmente, puede mencionarse agua, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, acetonitrilo, acetona metiletilcetona y acetato de etilo como disolventes preferibles.

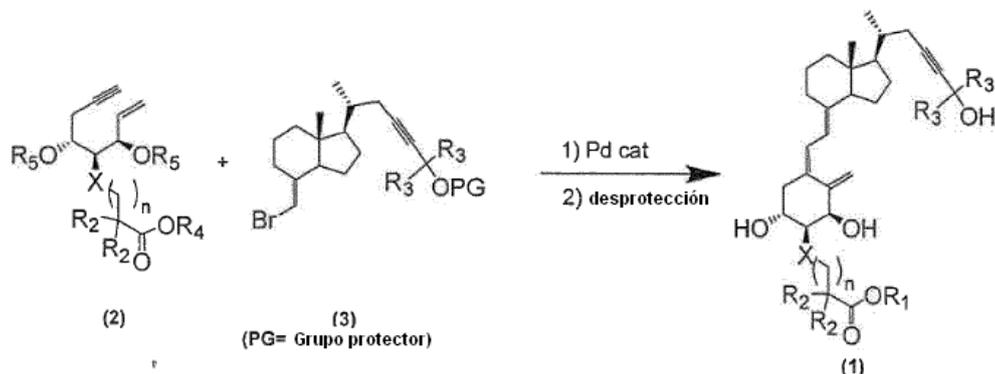
Además, R₅ en la fórmula (2) anterior representa un grupo protector para un grupo hidroxilo. El grupo protector para un grupo hidroxilo incluye un grupo metoximetilo, un grupo acilo que tiene 1 a 3 átomos de carbono (el número de átomos de carbono incluye el carbono carbonilo), un grupo trimetilsililo, un grupo trietilsililo, un grupo t-butildimetilsililo, un grupo t-butildifenilsililo y similares. Entre estos, un grupo trietilsililo y grupo t-butildimetilsililo pueden mencionarse como ejemplos preferibles.

Además, R₄ en la fórmula (2) anterior representa R₁ en la fórmula (1) anterior o representa un grupo metoximetilo, un grupo metoxietoximetilo, un grupo tetrahidrofurano, un grupo tetrahidropirano o un grupo benciloximetilo. Entre estos, es preferible un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo isopropilo; o un grupo t-butilo, un grupo t-butilcarboniloximetilo, un grupo fenilcarboniloxialquilo o un grupo benciloximetilo.

Además, en la fórmula (2) anterior, n representa un número entero de 1 o 2, en donde especialmente n es preferiblemente 1.

La síntesis del derivado de vitamina D₃ representado por la fórmula (1) anterior puede realizarse por cualquier método aunque puede, por ejemplo, llevarse a cabo como se describe en el siguiente Esquema 1. Esto es, después de que el compuesto (2) y el compuesto (3) se someten a una reacción de acoplamiento, el grupo protector del grupo hidroxilo se elimina, y, si fuera necesario, el grupo éster se hidroliza para obtener el material (1) diana.

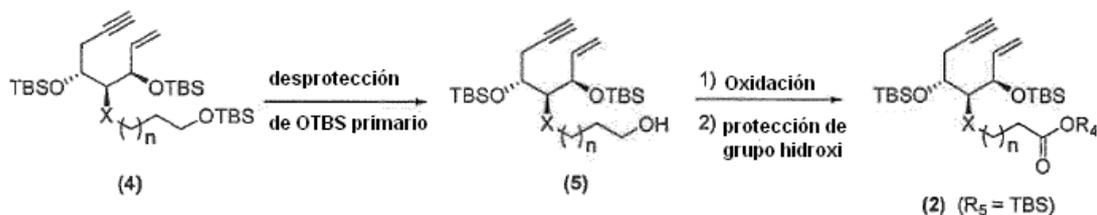
Esquema 1



En la fórmula de reacción anterior, R₁ a R₅ en el compuesto (1) y el compuesto (2) son los mismos que en la fórmula (1) y la fórmula (2) anteriores. Además, en la fórmula de reacción anterior, R₃ en el compuesto (3) son iguales que R₃ en la fórmula (1) anterior. Además, OPG en el compuesto (3) representa un grupo hidroxilo protegido. Específicamente, el grupo protector incluye un grupo trimetilsililo, un grupo trietilsililo y un grupo metoximetilo.

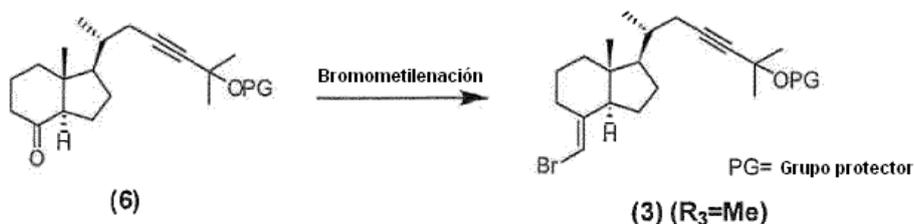
En el Esquema 1 anterior, cuando R₂ es un átomo de hidrógeno, el compuesto (2) puede sintetizarse a partir de un compuesto eno-ino (4) según el siguiente Esquema 2, el compuesto (4) eno-ino que se describe, por ejemplo, en una bibliografía (Takayama, et al., "Vitamin D Analog in Cancer Prevention and Therapy", Recent Results in Cancer Research, Vol. 164, Springer, págs. 289-317, 2003 y similares). Esto es, eliminando de forma selectiva el grupo protector (grupo t-butildimetilsililo; grupo TBS) del grupo hidroxilo primario de (4), se obtiene el compuesto (5). Entonces, el grupo hidroxilo de (5) se oxida a un grupo carboxilo, que se esterifica posteriormente para obtener el (2) deseado (R₂ = TBS).

Esquema 2



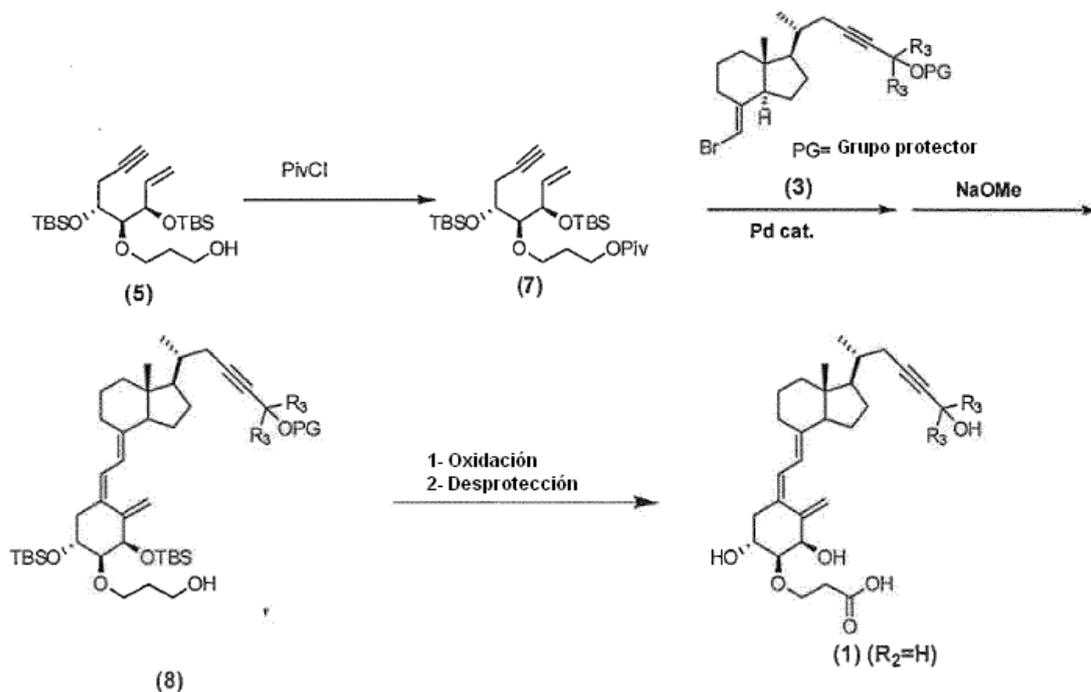
Mientras, en el Esquema 1 anterior, cuando R₃ es un grupo metilo, el compuesto (3) puede sintetizarse como se describe en el siguiente Esquema 3.

Esto es, el compuesto (3) puede obtenerse por bromometilación del compuesto (6), el último compuesto describiéndose en una bibliografía (por ejemplo, Patente de EE.UU. núm. 4804502).



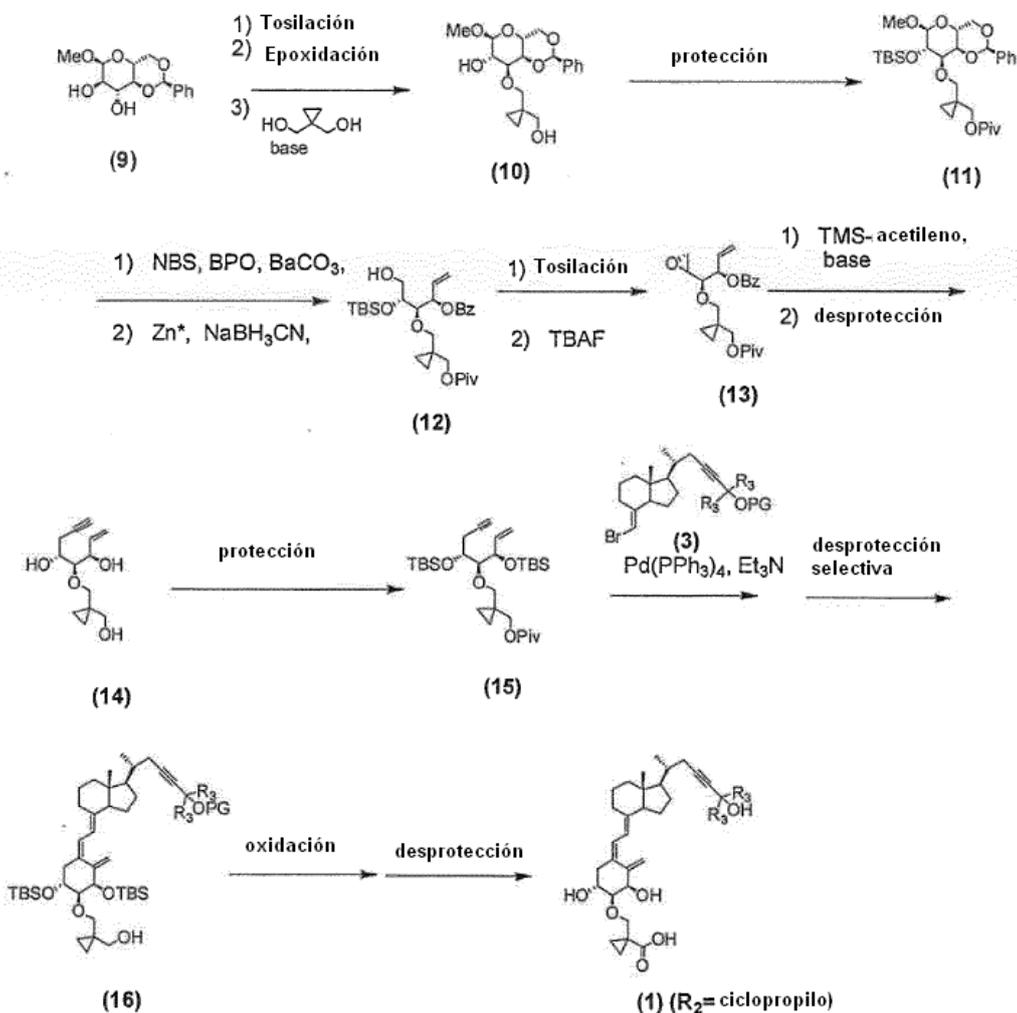
Además, entre los derivados de vitamina D₃ representados por la fórmula (1) anterior, un compuesto en donde R₂ es un átomo de hidrógeno puede sintetizarse también según el método mostrado en el Esquema 4 siguiente además del Esquema 1 anterior. Esto es, el compuesto (5) en el Esquema 2 se protege con un grupo pivaloilo para obtener el compuesto (7), que se somete a acoplamiento con el compuesto (3) en el Esquema 1 y la desprotección del grupo hidroxilo al final de un sustituyente unido a la posición 2 del anillo A para obtener el compuesto (8). El grupo hidroxilo del compuesto obtenido se oxida a un ácido carboxílico y, finalmente, todos los grupos protectores de los grupos hidroxilo se eliminan para obtener el compuesto (1) (R₂ = H).

Esquema 4



Además, en el Esquema 1 anterior, cuando R_2 se sustituye, por ejemplo, cuando R_2 en el compuesto (2) está formando un grupo cicloalquilo junto con el otro R_2 y el átomo de carbono al que están unidos, el compuesto (10) se obtiene epoxidando 4,6-O-bencilideno- α -D-metil-glucopiranosido (9) comercial, que se usa como el material de partida, y posteriormente llevando a cabo la apertura del anillo del epóxido bajo condiciones básicas, de la misma forma que el compuesto (4) eno-ino descrito en la bibliografía (Takayama, et al., "Vitamin D Analog in Cancer Prevention and Therapy", Recent Results in Cancer Research, Vol. 164, Springer, págs. 289-317, 2003 y similares). Después de obtener el compuesto (11) mediante protección de los grupos hidroxilo del compuesto (10), la apertura del anillo del anillo de bencilideno y, después, la reducción de la posición 1 de glucosa se llevaron a cabo para obtener el compuesto (12). Posteriormente, se forma un epóxido desde la parte diol para obtener el compuesto (13), seguido por la reacción del epóxido con acetileno para obtener el compuesto (14) que tiene un sitio de enlace triple introducido. Protegiendo adecuadamente los grupos hidroxilo, el compuesto (15) puede obtenerse. Por acoplamiento del compuesto (15) y el intermedio de anillo CD (3) descrito en el Esquema 1 y la desprotección selectiva, se obtiene el compuesto (16). Además, por oxidación del grupo hidroxilo primario a un ácido carboxílico y posterior desprotección de los grupos hidroxilo protegidos, puede obtenerse el compuesto (1) deseado.

Esquema 5



Un agente terapéutico para osteoporosis y similar, que comprende el derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo de la presente invención como un ingrediente activo, se prepara usando un vehículo, un vehículo, y otros aditivos usados normalmente en formulación de fármacos. El transporte y vehículo para la formulación de fármacos puede ser o bien sólido o líquido, e incluyen, por ejemplo, lactosa, estearato de magnesio, almidón, talco, gelatina, agar, goma arábiga, aceite de oliva, aceite de sésamo, manteca de cacao, etilenglicol y similares; y otros materiales usados normalmente. El modo de administración puede ser o bien administración oral por medio de comprimidos, píldoras, cápsulas, gránulos, polvo, fluidos y similares; o administración parenteral por medio de inyecciones tal como inyección intravenosa, inyección intramuscular y similares, supositorios, fármacos transdérmicos y similares.

En el agente terapéutico de la presente invención, una cantidad terapéuticamente efectiva del ingrediente activo varía dependiendo de la ruta de administración, edad y género del paciente, y extensión de la enfermedad. Sin embargo, generalmente es aproximadamente 0,01 a 10 µg/día y el número de dosis es generalmente 1 a 3 veces/día o 1 a 3 veces/semana. Así, la formulación se prepara preferiblemente para satisfacer estas condiciones.

Ejemplos

En adelante, la presente invención se describirá en más detalle con referencia a Ejemplos. Sin embargo, se debería entender que la presente invención no se considera como limitada a estos. Además, las abreviaturas usadas en la presente invención son como sigue:

20 TBS = grupo t-butildimetilsililo;

TES = grupo trietilsililo;

TESCI = clortrietilsilano,

TMS = grupo trimetilsililo;

TMSCl = clorotrimetilsilano;

Piv = grupo pivaloilo;

PivCl = cloruro de pivaloilo;

5 TBAF = fluoruro de tetrabutilamonio;

CSA = ácido (+/-)-canfor-10-sulfónico;

PDC = dicromato de piridinio;

TBSOTf = trifluorometanosulfonato de t-butildimetilsililo;

DIBAL = hidruro de dibutilaluminio;

10 DMF = N,N-dimetilformamida;

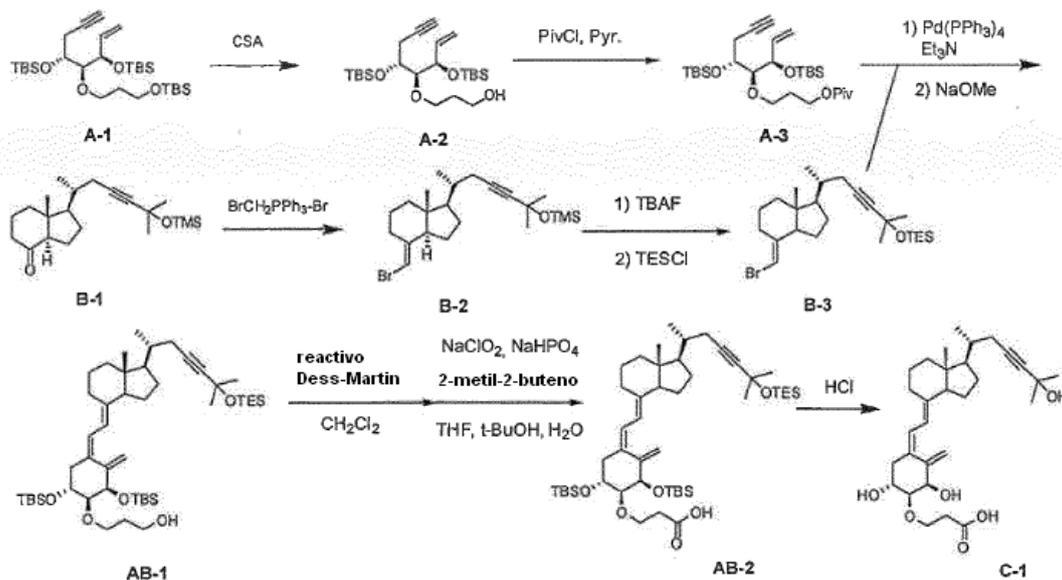
THF = tetrahidrofurano;

TsCl = cloruro de p-toluensulfonilo; y

Ts = p-toluensulfonilo.

Ejemplo 1

15 La producción de (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-carboxietoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto C-1)



(1) El compuesto A-1 (2,29 g, 4,11 mmoles), conocido en la bibliografía (por ejemplo, Kittaka et al., J. Org. Chem., 69, 7463-7471 (2004)), se disolvió en etanol (20 ml), se añadió a él ácido (+/-)-canfor-10-sulfónico (954 mg, 4,11 mmoles) bajo enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora. La reacción se terminó por la adición de carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado y la mezcla se diluyó con acetato de etilo. Esto se lavó con agua y cloruro sódico acuoso saturado y la fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 9/1) para obtener compuesto A-2 (1,64 g, rendimiento de 90%).

25 ¹H-RMN (CDCl₃) δ: 5,96-5,88 (1H, m), 5,27-5,21 (2H, m), 4,29 (1H, dd, J = 6,8, 3,9 Hz), 3,88-3,72 (5H, m), 3,45 (1H, dd, J = 5,4, 4,1 Hz), 3,00 (1H, t, J = 6,0 Hz), 2,50-2,46 (1H, m), 2,38-2,33 (1H, m), 2,01 (1H, t, J = 2,6 Hz), 1,85-1,68 (2H, m), 0,91 (9H, s), 0,91 (9H, s), 0,10 (9H, s), 0,07 (3H, s).

(2) El compuesto A-2 (1,0 g, 2,26 mmoles) obtenido en (1) se disolvió en piridina (10 ml) y, después de la adición de cloruro de pivaloilo (0,69 mL, 5,65 mmoles) a 0°C, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente. Se añadió metanol anhidro (3 mL) a ella y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos más. A esto se

añadió tolueno y la mezcla se concentró a presión reducida. Al residuo obtenido se añadió acetato de etilo, la mezcla se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 9/1) para obtener compuesto A-3 (1,072 g, rendimiento de 90%).

5 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,95 (1H, ddd, $J = 17,0, 11,0, 6,0$ Hz), 5,21 (1H, ddd, $J = 17, 2,0, 1,0$ Hz), 5,14 (1H, ddd, $J = 11,0, 2,0, 1,0$ Hz), 4,32-4,28 (1H, m), 4,18-4,10 (2H, m), 3,86 (1H, q, $J = 5,6$ Hz), 3,81-3,74 (1H, m), 3,68-3,60 (1H, m), 3,39 (1H, dd, $J = 5,4, 3,4$ Hz), 2,49 (1H, dq, $J = 17, 0, 2,7$ Hz), 2,35 (1H, dq, $J = 16,9, 2,8$ Hz), 1,96 (1H, t, $J = 2,7$ Hz), 1,87 (2H, dt, $J = 14,0, 7,0$ Hz), 1,19 (9H, s), 0,90 (9H, s), 0,89 (9H, s), 0,10 (3H, s), 0,08 (3H, s), 0,07 (5H, s), 0,03 (3H, s).

10 (3) Se disolvió bromuro de (bromometil)trifenilfosfonio (1,25 g, 2,87 mmoles) en tetrahidrofurano (7 ml) y la disolución se enfrió a 0°C bajo una atmósfera de nitrógeno. A esto se añadió bis(trimetilsilil)amida sódica (disolución en tetrahidrofurano 1,0 M, 2,90 mL, 2,87 mmoles) y la mezcla se agitó bajo enfriamiento con hielo durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a -78°C y a esto se añadió una disolución de compuesto B-1 (200 Mg, 0,574 mmoles) disuelto en tetrahidrofurano, (1,5 mL) conociéndose el compuesto en la bibliografía (por ejemplo, Uskokovic et al., Patente de EE.UU. núm. 4804502). Después de agitar a -78°C durante 1 hora, la mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora más. A la mezcla de reacción se añadió gel de sílice (2,5 g) y, después de agitación vigorosa a temperatura ambiente durante 10 minutos, la mezcla se filtró a través de celite. El filtrado obtenido se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 9/1) para obtener compuesto B-2 (161 mg, rendimiento de 67%).

15 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 5,65 (1H, s), 2,90-2,86 (1H, m), 2,28-1,24 (20H, m), 1,08 (3H, d, $J = 6,3$ Hz), 0,58 (3H, s), 0,18 (9H, s).

20 (4) El compuesto B-2 (1,2 g, 2,82 mmoles) obtenido en (3) se disolvió en tetrahidrofurano (10 mL), a esto se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (disolución en tetrahidrofurano 1 M, 4,23 mL, 4,23 mmoles), y la mezcla se agitó a 50°C durante 30 minutos. A esto se añadió acetato de etilo, la mezcla se lavó con agua, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 19/1). El material purificado se disolvió en piridina anhidra (10 mL) y la disolución se enfrió a 0°C bajo una atmósfera de nitrógeno. A esto se añadió clorotrietilsilano (0,944 mL, 5,70 mmoles) y la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y, después de la adición de cloruro de amonio acuoso saturado y agua, se realizó la extracción con tolueno. La fase orgánica se lavó con cloruro sódico acuoso saturado y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 99/1) para obtener Compuesto B-3 (783 mg, rendimiento de 88%).

25 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,65 (1H, s), 2,92-2,85 (1H, m), 2,23 (1H, dd, $J = 16,5, 3,4$ Hz), 2,07-1,24 (19H, m), 1,08 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,96 (9H, t, $J = 7,9$ Hz), 0,66 (6H, q, $J = 7,9$ Hz), 0,57 (3H, s).

30 (5) El compuesto B-3 (783 mg, 1,67 mmoles) obtenido en (4) y el compuesto A-3 (733 mg, 1,39 mmoles) obtenido en (2) se disolvieron en tolueno/trietilamina anhidra (1/1, 11,1 mL), a esto se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio (289 mg, 0,25 mmoles) y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno a 105°C durante 2 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron gel de diamina sílice (producido por Fuji Silysia Chemical Ltd., 6 g) y n-hexano (20 mL) a esto y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después, la mezcla se filtró usando acetato de etilo, el filtrado obtenido se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó por cromatografía con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 100/0 \rightarrow 95/5). El material purificado obtenido se disolvió en tetrahidrofurano anhidro (5,5 mL) y metanol anhidro (4,6 mL), a esto se añadió una disolución de metanol de metóxido sódico (0,91 mL, 5,46 mmoles), y la mezcla se puso a reflujo durante 1 hora. Se añadió cloruro de amonio acuoso saturado y la mezcla se concentró a presión reducida. Al residuo obtenido se añadió acetato de etilo, la mezcla se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 100/0 \rightarrow 50/50) para obtener compuesto AB-1 (609 mg, rendimiento 67%).

35 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 6,18 (1H, d, $J = 11,2$ Hz), 6,02 (1H, d, $J = 11,2$ Hz), 5,30 (1H, brs), 5,00 (1H, brs), 4,46 (1H, brs), 4,05 (1H, m), 3,88-3,69 (4H, m), 3,36 (1H, brs), 2,94 (1H, brs), 2,83-2,77 (1H, m), 2,62-2,56 (1H, m), 2,24 (1H, dd, $J = 16,5, 3,4$ Hz), 2,10 (1H, dd, $J = 13,9, 4,4$ Hz), 2,06-1,21 (21H, m), 1,07 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,96 (9H, t, $J = 7,9$ Hz), 0,93 (9H, s), 0,87 (9H, s), 0,67 (6H, q, $J = 7,9$ Hz), 0,55 (3H, s), 0,10 (3H, s), 0,10 (3H, s), 0,08 (3H, s), 0,07 (3H, s).

40 (6) El compuesto AB-1 (427 mg, 0,514 mmoles) obtenido en (5) se disolvió en diclorometano anhidro (5,2 mL) y la disolución se enfrió a 0°C . Después, se añadió reactivo de Dess-Martin (523 mg, 1,23 mmoles) y, después de agitar bajo enfriamiento con hielo durante 2 horas, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. A esto se añadieron tiosulfato sódico acuoso saturado y carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado, y la mezcla se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, se secó sobre sulfato sódico anhidro, y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en t-butanol (21 mL), a esto se añadieron tetrahidrofurano (37 mL) y 2-metil-2-buteno (6,47 mL), y la mezcla se enfrió con hielo. Se añadió una

disolución acuosa (7,3 mL) de hipoclorito sódico (pureza de 80%, 580 mg, 5,14 mmoles) y dihidrato de fosfato de dihidrógeno y sodio (400 mg, 2,57 mmoles) y la mezcla se agitó bajo enfriamiento con hielo durante 45 minutos. A esto se añadieron tiosulfato sódico acuoso saturado y carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con cloruro sódico acuoso saturado y se secó sobre sulfato sódico anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 100/0 → 80/20) para obtener compuesto AB-2 (341 mg, rendimiento de 78%).

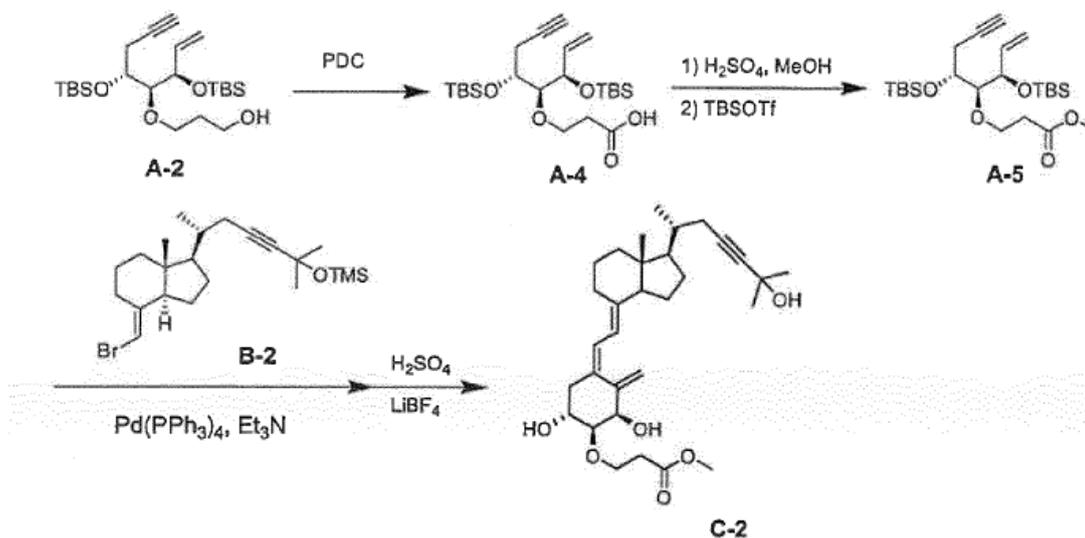
$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 6,22 (1H, d, J = 11,2 Hz), 6,00 (1H, d, J = 11,2 Hz), 5,27 (1H, brs), 4,99 (1H, brs), 4,45 (1H, brs), 4,07 (1H, m), 3,91 (2H, t, J = 6,1 Hz), 3,36 (1H, brs), 2,84-2,77 (1H, m), 2,64 (2H, d, J = 6,1, 1,5 Hz), 2,60-2,53 (1H, m), 2,24 (1H, dd, J = 16,5, 3,4 Hz), 2,13 (1H, dd, J = 13,9, 5,4 Hz), 2,07-1,21 (19H, m), 1,07 (3H, d, J = 6,3 Hz), 0,96 (9H, t, J = 7,9 Hz), 0,90 (9H, s), 0,87 (9H, s), 0,67 (6H, q, J = 7,9 Hz), 0,55 (3H, s), 0,09 (3H, s), 0,09 (6H, s), 0,07 (3H, s).

(7) El compuesto AB-2 (140 mg, 0,165 mmoles) obtenido en (6) se disolvió en acetona (1,65 mL) y la disolución se enfrió a 0°C. Después, una disolución diluida (1,65 mL) de ácido clorhídrico (6N, 0,332 mL) en acetona se añadió y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. A esto se añadió n-hexano (3,3 mL) y la mezcla se purificó aproximadamente por cromatografía con gel de sílice (n-hexano/acetona = 1/1) y cromatografía con gel de sílice en capa fina (n-hexano/acetona = 4/5), y se purificó adicionalmente por HPLC de fase inversa (A = 0,1% de ácido fórmico/1% de metanol/4% de acetonitrilo/agua; B = 0,1% de ácido fórmico/5% de agua/19% de metanol/acetonitrilo; 0-2 min.: B = 20%, 2-20 min.: B = 20% → 98%, 20-25 min.: B = 98%, 25-30 min.: B = 20%) para obtener el compuesto C-1 (34,9 mg, rendimiento de 42%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 6,42 (1H, d, J = 11,2 Hz), 6,00 (1H, d, J = 11,2 Hz), 5,39 (1H, d, J = 1,9 Hz), 5,09 (1H, d, J = 1,9 Hz), 4,50 (1H, d, J = 2,9 Hz), 4,36-3,58 (6H, m), 3,35 (1H, dd, J = 8,1, 3,2 Hz), 2,86-2,79 (1H, m), 2,72-2,57 (3H, m), 2,29-2,19 (2H, m), 2,04-1,20 (19H, m), 1,06 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,54 (3H, s).

Ejemplo 2

Producción de (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-metoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto C-2)



(1) El compuesto A-2 (1,45 g, 3,27 mmoles) obtenido en el Ejemplo 1 (1) se disolvió en dimetilformamida anhidra (15 mL), a esto se añadió dicromato de piridinio (6,17 g, 16,4 mmoles), y la mezcla se agitó durante 12 horas. Se añadió agua, la mezcla se extrajo con acetato de etilo, y la fase orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (20% de acetato de etilo/n-hexano) para obtener el compuesto A-4 (0,82 g, rendimiento de 55%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,90 (1H, ddd, J = 17,0, 6,0, 11,0 Hz), 5,30-5,20 (2H, m), 4,33 (1H, ddt, J = 7,0, 3,0, 1,0 Hz), 3,96 (2H, td, J = 6,0, 1,2 Hz), 3,85-3,75 (1H, m), 3,55 (1H, dd, J = 6,3, 3,7 Hz), 2,63 (2H, td, J = 5,9, 1,9 Hz), 2,50-2,32 (2H, m), 2,02 (1H, t, J = 2,7 Hz), 0,91 (9H, s), 0,90 (9H, s), 0,11 (3H, s), 0,10 (3H, s), 0,09 (3H, s), 0,08 (3H, s).

(2) El compuesto A-4 (0,82 g, 1,79 mmoles) obtenido en (1) se disolvió en metanol anhidro (8 mL), a esto se añadió ácido sulfúrico concentrado (74 μL , 1,5 mmoles), y la mezcla se agitó durante 2,5 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, se añadió carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado a esto y la mezcla se extrajo con

acetato de etilo. La fase orgánica obtenida se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en diclorometano anhidro, se añadió a esto bajo enfriamiento con hielo 2,6-lutidina (1,01 mL, 9 mmoles) y trifluorometanosulfonato de t-butildimetilsililo (1,65 mL, 7,2 mmoles), y a partir de ahí la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió metanol anhidro (1,5 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos más. Por esto se añadió n-hexano/acetato de etilo (9/1), la mezcla se lavó con agua, y la fase orgánica obtenida se secó sobre sulfato sódico anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (3% de acetato de etilo/n-hexano) para obtener compuesto A-5 (683,4 mg, rendimiento de 81%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ: 5,94 (1H, ddd, J = 10,0, 17,2, 6,5 Hz), 5,21 (1H, dt, J = 17,3, 1,3 Hz), 5,14 (1H, dt, J = 10,0, 1,3 Hz), 4,30 (1H, dd, J = 6,8, 3,4 Hz), 4,00-3,97 (1H, m), 3,88-3,82 (2H, m), 3,68 (3H, s), 3,40 (1H, dd, J = 5,5, 3,5 Hz), 2,57 (2H, t, J = 6,6 Hz), 2,48 (1H, dq, J = 16,8, 2,7 Hz), 2,35 (1H, dq, J = 17,0, 2,8 Hz), 1,96 (1H, t, J = 2,6 Hz), 0,90 (9H, s), 0,89 (9H, s), 0,09 (3H, s), 0,08 (3H, s), 0,07 (3H, s), 0,03 (3H, s).

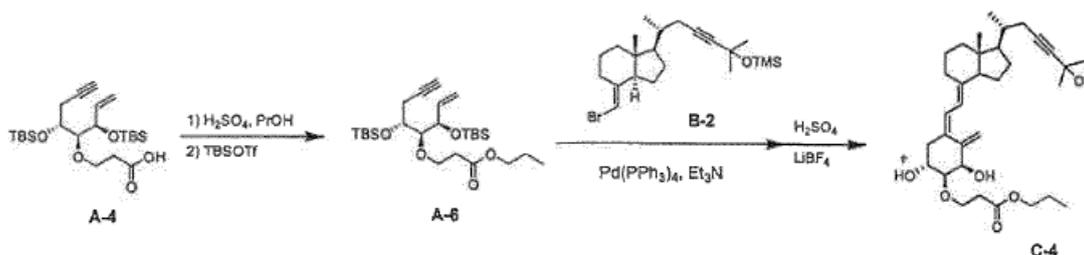
(3) El compuesto A-5 (47,0 mg, 0,1 mmoles) obtenido en (2) y el compuesto B-2 (46,2 mg, 0,11 mmoles) obtenido en el Ejemplo 1 (3) se disolvieron en tolueno/trietilamina (1/1, 2 mL), a esto se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio (12,5 mg, 0,0108 mmoles), y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno a 110°C durante 3 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó aproximadamente por cromatografía con gel de sílice en capa fina (n-hexano/acetato de etilo = 19/1). El material purificado en bruto obtenido se disolvió en diclorometano/acetonitrilo anhidro (1/1, 1 mL), se añadieron a esto a 0°C bajo una atmósfera de nitrógeno tetrafluoroborato de litio (78 mg, 0,8 mmoles) y ácido sulfúrico (disolución de acetonitrilo 1 M, 0,08 mL, 0,08 mmoles), y la mezcla se agitó durante 30 minutos. A esto se añadió carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica obtenida se lavó con cloruro sódico acuoso saturado y se secó sobre sulfato sódico anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó aproximadamente por cromatografía con gel de sílice en capa fina (n-hexano/acetato de etilo = 1/2) y se purificó adicionalmente por HPLC de fase inversa (A = 95% de agua/acetonitrilo; B = 0,5% de agua/40% de metanol/acetonitrilo; B = 75%) para obtener compuesto C-2 (6,8 mg, 13%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ: 6,42 (1H, d, J = 11,2 Hz), 6,03 (1H, d, J = 11,2 Hz), 5,40 (1H, d, J = 1,2 Hz), 5,09 (1H, d, J = 2,2 Hz), 4,45 (1H, t, J = 3,3 Hz), 4,06-3,79 (3H, m), 3,73 (3H, s), 3,36 (1H, dd, J = 7,7, 3,3 Hz), 2,85-2,60 (7H, m), 2,24 (2H, dt, J = 18,8, 5,9 Hz), 2,02-1,96 (3H, m), 1,89-1,82 (2H, m), 1,72-1,54 (6H, m), 1,51 (6H, s), 1,47-1,24 (4H, m), 1,06 (3H, d, J = 6,3 Hz), 0,54 (3H, s).

MS m/z 537,2 (M+23) + 523,3 (M+18)+

Ejemplo 3

Producción de (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-propoxycarboniletoksi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto C-4)



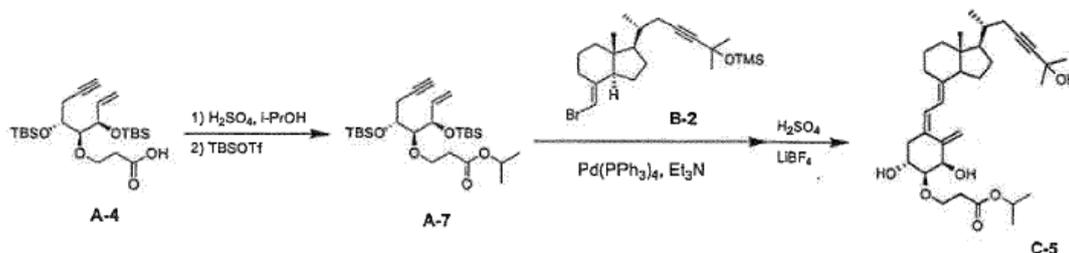
(1) Usando el compuesto A-4 (240 mg, 0,525 mmoles) obtenido en el Ejemplo 2 (1) como una materia prima y sustituyendo metanol con propanol, la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 2 (2) para obtener compuesto A-6 (18,5 mg, rendimiento de 27%).

(2) Usando el compuesto A-6 (40,5 mg, 0,081 mmoles) obtenido en (1) y el compuesto B-2 (47 mg, 0,11 mmoles) obtenido en el Ejemplo 1 (3) como materias primas, la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 2 (3) para obtener el compuesto C-4 (6,8 mg, rendimiento de 15%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ: 6,42 (1H, d, J = 11,2 Hz), 6,03 (1H, d, J = 11,2 Hz), 5,39 (1H, d, J = 1,2 Hz), 5,09 (1H, d, J = 2,2 Hz), 4,45 (1H, t, J = 3,5 Hz), 4,08 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,06-3,95 (2H, m), 3,85-3,77 (1H, m), 3,36 (1H, dd, J = 7,8, 3,2 Hz), 2,85-2,82 (1H, m), 2,79 (1H, d, J = 4,1 Hz), 2,70-2,62 (4H, m), 2,26-2,22 (2H, m), 2,03-1,98 (3H, m), 1,90-1,80 (3H, m), 1,70-1,64 (7H, m), 1,58-1,53 (4H, m), 1,51 (6H, s), 1,48-1,45 (2H, m), 1,40-1,20 (4H, m), 1,06 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,94 (4H, t, J = 7,4 Hz), 0,54 (3H, s).

Ejemplo 4

Producción de (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-(1-metil)etoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto C-5)



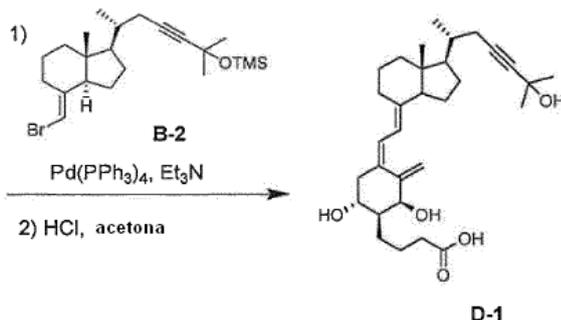
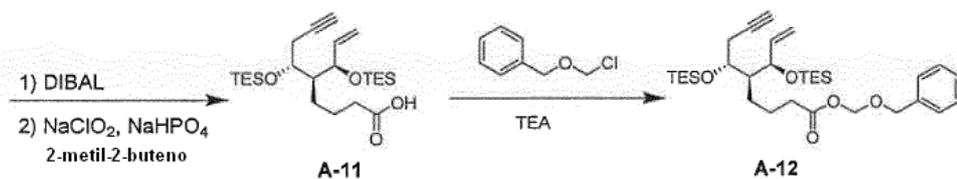
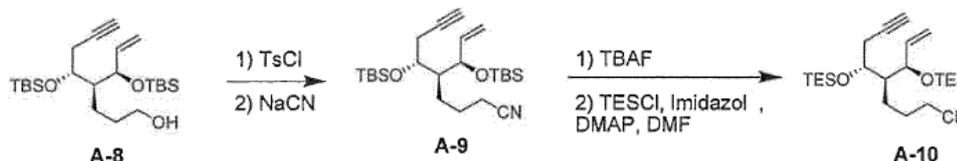
5 (1) Usando el compuesto A-4 (240 mg, 0,525 mmoles) obtenido en el Ejemplo 2 (1) como una materia prima y sustituyendo metanol con isopropanol, la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 2 (2) para obtener el compuesto A-7 (157,4 mg, rendimiento de 60%).

10 (2) Usando el compuesto A-7 (35 mg, 0,07 mmoles) obtenido en (1) y el compuesto B-2 (44 mg, 0,11 mmoles) obtenido en el Ejemplo 1 (3) como materias primas, la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 2 (3) para obtener el compuesto C-5 (6,8 mg, rendimiento de 17%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ: 6,42 (1H, d, J = 11,0 Hz), 6,03 (1H, d, J = 11,5 Hz), 5,39 (1H, d, J = 1,5 Hz), 5,09-5,02 (2H, m), 4,45 (1H, t, J = 3,5 Hz), 4,05-3,78 (3H, m), 3,35 (1H, dd, J = 7,7, 3,3 Hz), 2,85-2,58 (6H, m), 2,28-1,53 (18H, m), 1,51 (6H, s), 1,46-1,30 (5H, m), 1,26 (3H, d, J = 1,7 Hz), 1,24 (3H, d, J = 1,5 Hz), 1,06 (3H, d, J = 6,3 Hz), 0,54 (3H, s).

Ejemplo 5

15 Producción de (5Z,7E)-(1S,2S,3R,20R)-2-(2-carboxipropil)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto D-1)



(1) Compuesto A-8 (0,72 g, 1,69 mmoles), obtenido de (3R,4R,5S)-3,5-bis[(t-butildimetilsilil)oxi]-4-[3-{{t-butildimetilsilil}oxi}propil]oct-1-eno-7-ina, un compuesto conocido en la bibliografía (por ejemplo, Saito, et al., Tetrahedron, 60, 7951-7961 (2004)) de la misma manera que en el Ejemplo 1 (1), se disolvió en diclorometano (6,8 ml). A esto se añadieron a 0°C trietilamina (0,47 mL, 3,37 mmoles), hidrocloreto de trimetilamina (16 mg, 0,169 mmoles), y cloruro de p-toluensulfonilo (0,48 g, 2,53 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado a esto, la mezcla se extrajo con acetato de etilo, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se disolvió en dimetilformamida (3 mL). Se añadieron a esto cianuro sódico (199 mg, 4,06 mmoles) y yoduro sódico (380 mg, 2,53 mmoles), y la mezcla se agitó a 50°C durante 2 horas. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se concentró a presión reducida para obtener compuesto A-9 en bruto. Este se disolvió en tetrahidrofurano (5 mL), se añadió a esto fluoruro de tetrabutilamonio (disolución de tetrahidrofurano 1M, 5,07 mL, 5,07 mmoles), y la mezcla se agitó a 60°C durante 1 hora. Se añadió acetato de etilo, la mezcla se lavó con agua, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en dimetilformamida (5 mL), a esto se añadieron a 0°C imidazol (460 mg, 6,76 mmoles), dimetilaminopiridina (21 mg, 0,169 mmoles), y clortrietilsilano (0,851 mL, 5,07 mmoles), y la mezcla se agitó a 50°C durante 40 minutos. Se añadió carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado a esto, la mezcla se extrajo con acetato de etilo, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (1% de acetato de etilo/n-hexano → 2% de acetato de etilo/n-hexano → 5% de acetato de etilo/n-hexano → 10% de acetato de etilo/n-hexano) para obtener compuesto A-10 (531,3 mg, rendimiento de 72%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,82 (1H, ddd, J = 17,0, 10,0, 7,0 Hz), 5,17 (1H, dd, J = 17,2, 1,1 Hz), 5,11 (1H, ddd, J = 10,0, 2,0, 1,0 Hz), 4,00-3,95 (1H, m), 2,42-2,37 (2H, m), 2,32 (2H, t, J = 7,8 Hz), 1,97 (1H, t, J = 2,6 Hz), 1,85-1,65 (3H, m), 1,43-1,29 (2H, m), 1,26 (2H, t, J = 7,2 Hz), 0,89 (19H, s), 0,09 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,03 (3H, s).

(2) El compuesto A-10 (449,4 mg, 1,03 mmoles) obtenido en (1) se disolvió en diclorometano (5 mL), se añadió a esto hidruro de diisobutilaluminio (disolución de tolueno 1 M, 2,08 mL, 2,08 mmoles) bajo enfriamiento a -78°C, y la mezcla se agitó a -78°C durante 50 minutos. Se añadió metanol anhidro (0,3 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Además, se añadió tartrato de potasio y sodio acuoso saturado y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se añadió acetato de etilo a esto, la mezcla se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en tetrahidrofurano (6,9 mL), se añadió a esto t-butanol (6,9 mL) y 2-metil-2-buteno (4,5 g), y la mezcla se enfrió con hielo. Una disolución acuosa (6,9 mL) de hipoclorito sódico (931 mg, 10,3 mmoles) y fosfato de dihidrógeno y sodio (803 mg, 5,15 mmoles) se añadió a esto y la mezcla se agitó durante 1 hora. Esto se continuó con la adición de tiosulfato sódico acuoso saturado y, además, por la adición de carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, se secó sobre sulfato sódico anhidro, y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 100/1 → 50/1 → 20/1 → 10/1 → 5/1 → 2/1) para obtener compuesto A-11 (220 mg, rendimiento de 47%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,82 (1H, ddd, J = 17,0, 10,0, 7,0 Hz), 5,17 (1H, dd, J = 17,2, 1,1 Hz), 5,11 (1H, ddd, J = 10,0, 2,0, 1,0 Hz), 4,00-3,95 (1H, m), 2,42-2,37 (2H, m), 2,32 (2H, t, J = 7,8 Hz), 1,97 (1H, t, J = 2,6 Hz), 1,85-1,65 (3H, m), 1,43-1,29 (2H, m), 1,26 (2H, t, J = 7,2 Hz), 0,89 (19H, s), 0,09 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,03 (3H, s).

(3) El compuesto A-11 (126,6 mg, 0,278 mmoles) obtenido en (2) se disolvió en dimetilformamida (1,2 mL), se añadió a esto trietilamina (0,126 mL, 0,9 mmoles) bajo enfriamiento a 0°C, y la mezcla se agitó durante 40 minutos. Se añadió a esto carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 95/5) para obtener compuesto A-12 (126,5 mg, rendimiento de 79%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,82 (1H, ddd, J = 17,0, 10,0, 7,0 Hz), 5,17 (1H, dd, J = 17,2, 1,1 Hz), 5,11 (1H, ddd, J = 10,0, 2,0, 1,0 Hz), 4,00-3,95 (1H, m), 2,42-2,37 (2H, m), 2,32 (2H, t, J = 7,8 Hz), 1,97 (1H, t, J = 2,6 Hz), 1,85-1,65 (3H, m), 1,43-1,29 (2H, m), 1,26 (2H, t, J = 7,2 Hz), 0,89 (19H, s), 0,09 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,03 (3H, s).

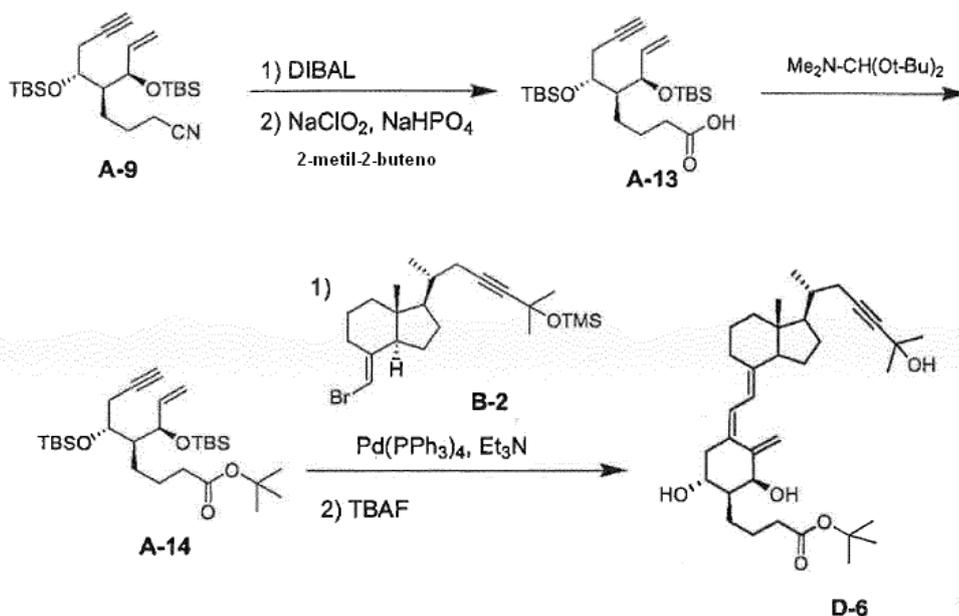
(4) El compuesto A-12 (46 mg, 0,08 mmoles) obtenido en (3) anterior y el compuesto B-2 (47 mg, 0,1 mmoles) obtenido en Ejemplo 1 (3) se disolvieron en tolueno/trietilamina (1/1, 0,2 mL), a esto se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio (12 mg, 0,01 mmoles), y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno a 110°C durante 3 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y, a partir de ahí, se concentró a presión reducida. El residuo se purificó aproximadamente por cromatografía en columna con gel de sílice de capa fina (n-hexano/acetato de etilo = 19/1). El material purificado en bruto obtenido se disolvió en acetona, se añadió ácido clorhídrico (6 N, 0,1 mL, 0,6 mmoles) a esto, y la mezcla se agitó a 0°C durante 50 minutos. Además, se añadió ácido clorhídrico (6 N, 0,2 mL, 1,2 mmoles), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 40 minutos. Se añadió a esto carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se concentró a presión reducida, y el residuo obtenido se purificó aproximadamente por Bond Elut SI (producido por Varian, Inc.; n-hexano/acetato de etilo = 1/2 → acetato de etilo → acetato de

etilo/ácido acético = 99/1). El material purificado en bruto se purificó adicionalmente por HPLC de fase inversa (A = 95% de agua/acetonitrilo; B = 0,5% de ácido acético/5% de agua/acetonitrilo; B = 65%) para obtener compuesto D-1 (14,6 mg, 36%).

5 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 6,40 (1H, d, $J = 11,5$ Hz), 6,00 (1H, d, $J = 11,2$ Hz), 5,27 (1H, d, $J = 1,5$ Hz), 4,99 (1H, d, $J = 2,0$ Hz), 4,39 (1H, t, $J = 4,0$ Hz), 3,92-3,84 (1H, m), 2,86-2,79 (1H, m), 2,65 (1H, dd, $J = 13,3, 4,3$ Hz), 2,30-2,20 (4H, m), 2,05-1,96 (3H, m), 1,88 (2H, t, $J = 10,0$ Hz), 1,81-1,64 (8H, m), 1,56 (6H, dt, $J = 15,3, 4,5$ Hz), 1,51 (6H, s), 1,49-1,46 (3H, m), 1,45 (9H, s), 1,40-1,24 (5H, m), 1,06 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,54 (3H, s), 0,54 (3H, s).

Ejemplo 6

10 Producción de (5Z,7E)-(1S,2S,3R,20R)-2-(2-(1,1-dimetil)etoxicarbonilpropil)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto D-6)



15 (1) El compuesto A-9 (565 mg, 1,29 mmoles) obtenido en el Ejemplo 5 (1) se disolvió en diclorometano, se añadió a esto hidruro diisobutilaluminio (disolución de tolueno 1 M, 2 mL, 2 mmoles) bajo enfriamiento a -78°C , y la mezcla se agitó a -78°C durante 2 horas. El metanol anhidro (1 mL) se añadió y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Además, el tartrato de potasio y sodio acuoso saturado se añadió y la mezcla se agitó durante 10 minutos. El acetato de etilo se añadió a esto, la mezcla se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en tetrahidrofurano (18,3 mL), se añadió a esto t-butanol (18,3 mL) y 2-metil-2-buteno (6 mL), y la mezcla se enfrió con hielo. Una disolución acuosa (5 mL) de hipoclorito sódico (1,47 g, 13 mmoles) y dihidrogenofosfato sódico (1,01 g, 6,5 mmoles) se añadió a esto y la mezcla se agitó durante 1 hora. A la mezcla se añadió tiosulfato sódico acuoso saturado y, además, carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, se secó sobre sulfato sódico anhidro, y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 9/1 \rightarrow 7/1 \rightarrow 5/1) para obtener compuesto A-13 (233,7 mg, rendimiento de 38%).

25 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,82 (1H, ddd, $J = 17,0, 10,0, 7,0$ Hz), 5,17 (1H, dd, $J = 17,2, 1,1$ Hz), 5,11 (1H, ddd, $J = 10,0, 2,0, 1,0$ Hz), 4,00-3,95 (1H, m), 2,42-2,37 (2H, m), 2,32 (2H, t, $J = 7,8$ Hz), 1,97 (1H, t, $J = 2,6$ Hz), 1,85-1,65 (3H, m), 1,43-1,29 (2H, m), 1,26 (2H, t, $J = 7,2$ Hz), 0,89 (19H, s), 0,09 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,03 (3H, s).

30 (2) Al compuesto A-13 (228,4 mg, 0,5 mmoles) obtenido en (1) se añadió tolueno (5 mL) y N,N-dimetilformamida di-t-butilo acetal (1,1 mL, 4 mmoles), y la mezcla se agitó a 80°C durante 1 hora. Se añadió a esto acetato de etilo, la mezcla se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía con gel de sílice (3% de acetato de etilo/n-hexano) para obtener compuesto A-14 (118,5 mg, rendimiento de 46%).

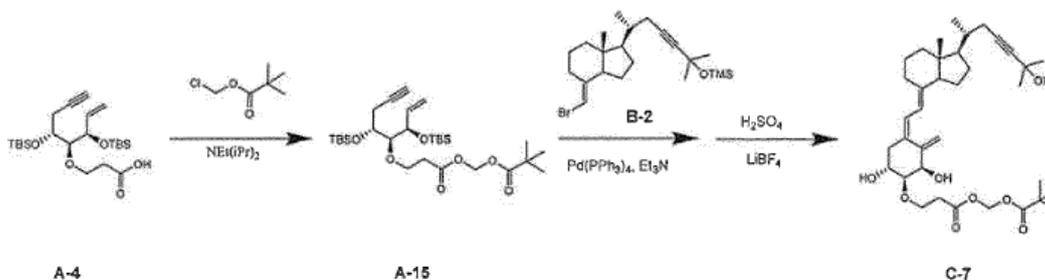
35 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,83 (1H, ddd, $J = 17,0, 10,0, 7,0$ Hz), 5,15 (1H, dq, $J = 17,2, 1,0$ Hz), 5,10 (1H, dq, $J = 10,0, 1,0$ Hz), 4,12 (1H, dd, $J = 8,0, 5,0$ Hz), 4,00 (1H, td, $J = 6,2, 3,8$ Hz), 2,39 (2H, dd, $J = 6,1, 2,7$ Hz), 2,17 (2H, t, $J = 8,0$ Hz), 1,79-1,63 (3H, m), 1,44 (9H, s), 1,40-1,20 (4H, m), 0,89 (18H, s), 0,09 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,05 (3H, s), 0,03 (3H, s).

(3) El compuesto A-14 (59,6 mg, 0,12 mmoles) obtenido en (2) y el compuesto B-2 (60 mg, 0,14 mmoles) obtenido en el Ejemplo 1 (3) se disolvieron en tolueno/trietilamina (1/1, 2 mL), a esto se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio (17 mg, 0,0147 mmoles), y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno a 110°C durante 3,5 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó aproximadamente por cromatografía con gel de sílice en capa fina (n-hexano/acetato de etilo = 19/1). El material purificado en bruto obtenido se disolvió en tetrahidrofurano, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (disolución de tetrahidrofurano 1 M, 0,84 mL, 0,84 mmoles) a esto, y la mezcla se agitó a 60°C durante 2 horas. Se añadió acetato de etilo, la mezcla se lavó con agua, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó aproximadamente por cromatografía con gel de sílice en capa fina (n-hexano/acetato de etilo = 1/1) y se purificó adicionalmente por HPLC de fase inversa (A = 95% de agua/acetronitrilo; B = 0,5 % de agua/40% de metanol/acetronitrilo; B = 85%) para obtener el compuesto D-6 (5,0 mg, rendimiento de 7%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 6,40 (1H, d, J = 11,5 Hz), 6,00 (1H, d, J = 11,2 Hz), 5,27 (1H, d, J = 1,5 Hz), 4,99 (1H, d, J = 2,0 Hz), 4,39 (1H, t, J = 4,0 Hz), 3,92-3,84 (1H, m), 2,86-2,79 (1H, m), 2,65 (1H, dd, J = 13,3, 4,3 Hz), 2,30-2,20 (4H, m), 2,05-1,96 (3H, m), 1,88 (2H, t, J = 10,0 Hz), 1,81-1,64 (8H, m), 1,56 (6H, dt, J = 15,3, 4,5 Hz), 1,51 (6H, s), 1,49-1,46 (3H, m), 1,45 (9H, s), 1,40-1,24 (5H, m), 1,06 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,54 (3H, s), 0,54 (3H, s).

Ejemplo 7

Producción de (5Z,7E)-(1R,2S,3,4,20R)-2-((t-butilcarboniloxi)metoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3-25-triol (Compuesto C-7)



(1) El compuesto A-4 (164,3 mg, 0,360 mmoles) obtenido en el Ejemplo 2 (1) se disolvió en N,N-dimetilformamida anhidra (1,2 mL) y la disolución se enfrió a 0°C. Se añadieron trietilamina (0,15 mL, 1,08 mmoles) y cloruro de pivaloiloximetilo (0,104 mL, 0,719 mmoles) a esto y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de 1 hora, se añadieron yoduro sódico (150 mg, 1,008 mmoles) y carbonato de potasio (140 mg, 1,008 mmoles), y la mezcla se agitó bajo calentamiento a 50°C durante 30 minutos más. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y, después de la dilución con agua, la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y a partir de ahí se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 5/1) para obtener compuesto A-15 (158,0 mg, rendimiento de 77%).

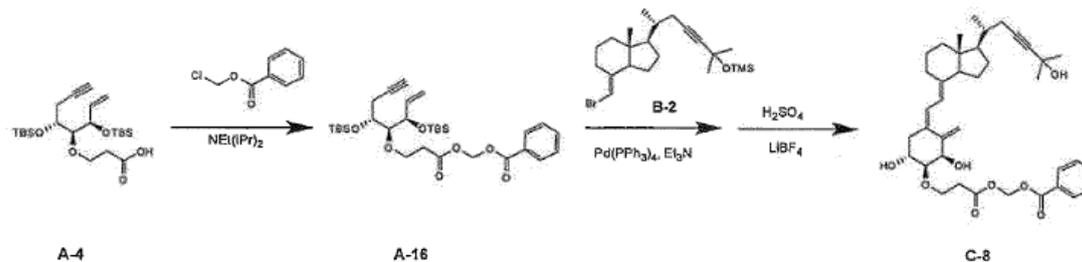
$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,98-5,90 (1H, m), 5,76 (2H, s), 5,21 (1H, dt, J = 17,32, 1,46 Hz), 5,14 (1H, dt, J = 10,37, 1,10 Hz), 4,30 (1H, dd, J = 8,00, 3,00 Hz), 4,02-3,82 (3H, m), 3,42 (1H, dd, J = 5,61, 3,41 Hz), 2,62 (2H, t, J = 6,71 Hz), 2,47 (1H, ddd, J = 16,83, 2,68, 5,50 Hz), 2,34 (1H, ddd, J = 16,83, 2,76, 5,50 Hz), 1,96 (1H, t, J = 2,68 Hz), 1,21 (9H, s), 0,90 (9H, s), 0,89 (9H, s), 0,09 (3H, s), 0,08 (3H, s), 0,07 (3H, s), 0,03 (3H, s).

(2) Usando el compuesto A-15 (40 mg, 0,07 mmoles) obtenido en (1) y el compuesto B-2 (36 mg, 0,085 mmoles) obtenido en el Ejemplo 1 (3) como materias primas, la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 2 (3) para obtener compuesto C-7 (7,8 mg, rendimiento de 18%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 6,42 (1H, d, J = 11,47 Hz), 6,02 (1H, d, J = 11,22 Hz), 5,81-5,76 (2H, m), 5,39 (1H, d, J = 1,46 Hz), 5,09 (1H, d, J = 2,20 Hz), 4,44 (1H, s), 4,04-3,95 (2H, m), 3,85-3,80 (1H, m), 3,36 (1H, dd, J = 7,56, 3,17 Hz), 2,85-2,57 (6H, m), 2,28-1,81 (8H, m), 1,59-1,24 (16H, m), 1,23 (9H, s), 1,06 (3H, d, J = 6,59 Hz), 0,54 (3H, s).

Ejemplo 8

Producción de (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-((fenilcarboniloxi)metoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto C-8)



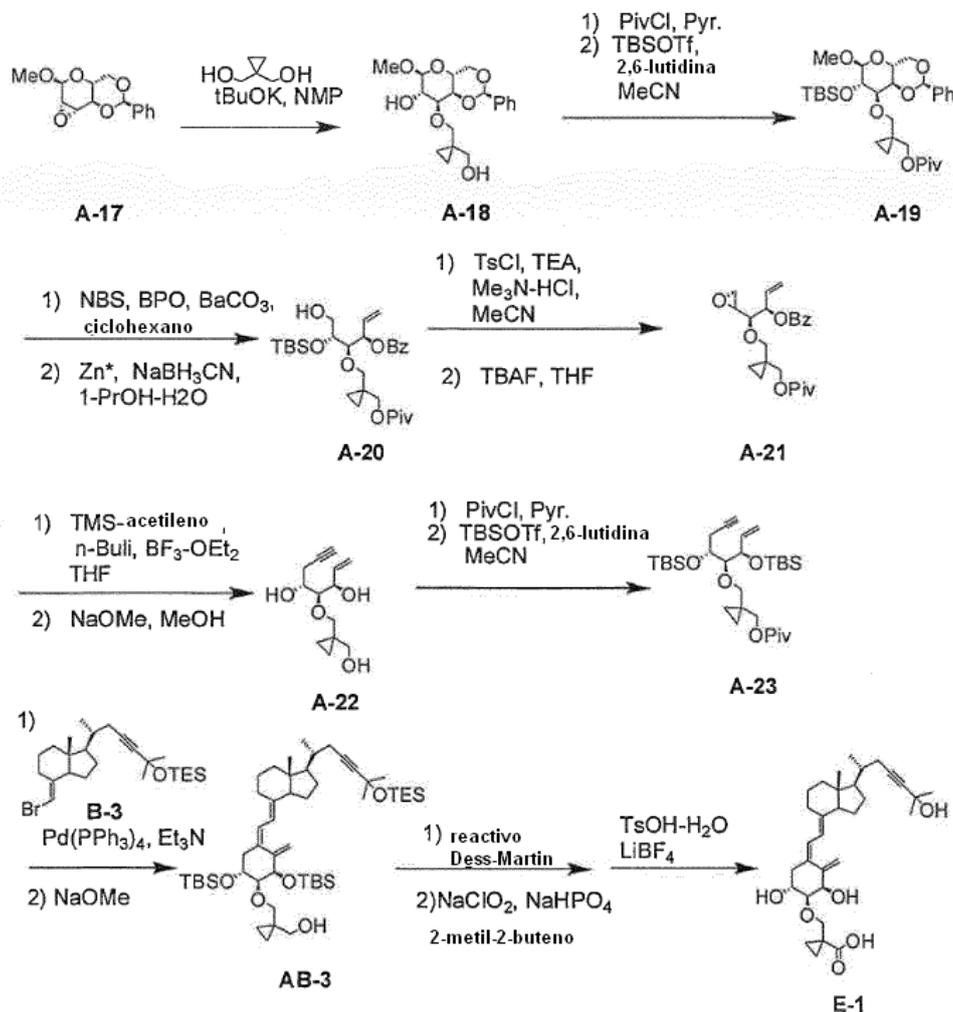
- 5 Usando el compuesto A-4 (175 mg, 0,383 mmoles) obtenido en el Ejemplo 2 (1) como una materia prima y sustituyendo cloruro de pivaloiloximetilo con cloruro de benzoiloximetilo, se llevó a cabo la síntesis de la misma manera que en el Ejemplo 7 (1) para obtener compuesto A-16. A partir de ahí, usando el compuesto B-2 (34 mg, 0,08 mmoles) obtenido en el Ejemplo 1 (3) como materiales de partida, la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 7 (2) para obtener el compuesto C-8 (4,9 mg, rendimiento de 11%).
- 10

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 8,09-8,07 (2H, m), 7,62-7,44 (3H, m), 6,41 (1H, d, $J = 10,98$ Hz), 6,05-6,01 (3H, m), 5,38 (1H, d, $J = 1,46$ Hz), 5,07 (1H, d, $J = 1,95$ Hz), 4,44 (1H, d, $J = 2,93$ Hz), 4,05-3,97 (2H, m), 3,87-3,82 (1H, m), 3,36 (1H, dd, $J = 7,56, 3,17$ Hz), 2,85-2,64 (4H, m), 2,32-2,18 (2H, m), 2,05-1,53 (9H, m), 1,49-1,24 (4H, m), 1,06 (3H, d, $J = 6,34$ Hz), 0,55 (3H, s).

15

Ejemplo 9

Producción de (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-((2-carboxi-2,2-etano)etoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto E-1)



- 5 (1) El compuesto A-17 (6,03 g, 22,8 mmoles), descrito en la bibliografía (por ejemplo, Kittaka et al., J. Org. Chem., 69, 7463-7471 (2004)), se disolvió en N-metilpirrolidona (60 mL), se añadió a esto t-butoxido de potasio (11,88 g, 114 mmoles), y la mezcla se agitó bajo calentamiento a 130°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadieron agua (240 mL) y después DIAION HP-20SS (producido por Mitsubishi Chemical Corporation, 30 g (peso seco)) a esto, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente toda la noche. La mezcla de reacción se filtró, el material sólido se lavó con cloruro de amonio acuoso saturado (100 mL) y agua (200 mL), y se extrajo con acetona (500 mL). La disolución de extracción se concentró a presión reducida y se diluyó con acetato de etilo. La mezcla se lavó con cloruro sódico acuoso saturado y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 1/4) para obtener el compuesto A-18 (1,78 g, rendimiento de 21%).
- 10

¹H-RMN (CDCl₃) δ: 7,51-7,36 (5H, m), 5,54 (1H, s), 4,61 (1H, s), 4,40-4,29 (2H, m), 4,08 (1H, t, J = 4,27 Hz), 4,01 (1H, dd, J = 9,27, 2,68 Hz), 3,93 (1H, br s), 3,83-3,75 (3H, m), 3,60-3,50 (3H, m), 3,41 (3H, s), 0,59-0,41 (3H, m).

- (2) El compuesto A-18 (2,97 g, 8,10 mmoles) obtenido en (1) se disolvió en piridina anhidra (30 mL) y la disolución se enfrió a 0°C. A esto se añadió cloruro de pivaloilo (1,15 mL, 9,32 mmoles) y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. Se añadió metanol anhidro (3 mL) a esto, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en tolueno, la disolución se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, y a partir de ahí, la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y se secó. Este material en bruto se disolvió en diclorometano anhidro (20 mL), la disolución se enfrió a 0°C, y después de la adición de 2,6-lutidina (1,3 mL, 11,6 mmoles) y trifluorometanosulfonato de t-butildimetilsililo (2,14 mL, 9,32 mmoles) a esto, la mezcla se agitó a temperatura
- 20
- 25

ambiente durante 1 hora. Se añadió metanol anhidro (5 mL) y la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en tolueno, la disolución se lavó con agua, y la fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (5% de acetato de etilo/n-hexano → 10% de acetato de etilo/n-hexano) para obtener compuesto A-19 (3,19 g, rendimiento de 69%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 7,49-7,34 (5H, m), 5,56 (1H, s), 4,45 (1H, s), 4,29-4,25 (2H, m), 4,18 (1H, d, J = 11,22 Hz), 3,98-3,92 (3H, m), 3,75 (1H, t, J = 12,08 Hz), 3,65 (1H, t, J = 2,68 Hz), 3,56 (2H, dd, J = 29,76, 9,51 Hz), 3,35 (3H, s), 1,19 (9H, s), 0,91 (9H, s), 0,61-0,51 (4H, m), 0,10 (3H, s), 0,10 (3H, s).

(3) El compuesto A-19 (3,17 g, 5,61 mmoles) obtenido en (2) se disolvió en ciclohexano (63 mL), a esto se añadieron carbonato de bario (775 mg, 3,92 mmoles), peróxido de benzoilo (136 mg, 0,56 mmoles), y N-bromosuccinimida (1,21 g, 6,73 mmoles), y la mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora. Después del enfriamiento, la mezcla se filtró a través de celite, y la fase orgánica se lavó en el orden de carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado y cloruro sódico acuoso saturado. A partir de ahí, la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida para obtener un material en bruto (4,0 g). Este material en bruto se disolvió en un disolvente mixto de 1-propanol (36 mL) y agua (4 mL), se añadieron a esto zinc activo (7,38 g, 112,2 mmoles) y cianoborohidruro sódico (1,42 g, 22,4 mmoles), y la mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora. Después de enfriar, la mezcla se filtró a través de celite, el sólido se lavó con 1-propanol, y a partir de ahí el líquido se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se diluyó con acetato de etilo, se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 90/10 → 80/20) para obtener compuesto A-20 (1,50 g, rendimiento de 50%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 8,05-8,02 (2H, m), 7,59-7,43 (3H, m), 6,11 (1H, ddd, J = 11,00, 17,32, 6,00 Hz), 5,78-5,75 (1H, m), 5,41 (1H, dt, J = 17,32, 1,34 Hz), 5,30 (1H, dt, J = 10,49, 1,22 Hz), 4,17 (1H, d, J = 11,47 Hz), 3,96-3,93 (2H, m), 3,81 (1H, dd, J = 11,47, 5,12 Hz), 3,73-3,68 (2H, m), 3,64 (1H, d, J = 9,76 Hz), 3,50 (1H, d, J = 9,76 Hz), 1,18 (9H, s), 0,90 (9H, s), 0,55 (4H, t, J = 1,95 Hz), 0,09 (3H, s), 0,07 (3H, s).

(4) El compuesto A-20 (2,41 g, 4,5 mmoles) obtenido en (3) se disolvió en acetonitrilo (25 mL), se añadieron a esto trietilamina (1,26 mL, 9 mmoles), hidrocloreto de trimetilamina (86 mg, 0,9 mmoles) y cloruro de p-toluensulfonilo (1,30 g, 6,8 mmoles) en este orden, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado a esto y la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con acetato de etilo y la mezcla se lavó con cloruro sódico acuoso saturado. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El material en bruto (3,31 g) se disolvió en tetrahidrofurano (18 mL), a esto se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (disolución de tetrahidrofurano 1 M, 13,5 mL, 13,5 mmoles), y la mezcla se calentó a reflujo durante 1,5 horas. Después de enfriar, la mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se diluyó con tolueno. La mezcla se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 90/10) para obtener compuesto A-21 (851 mg, rendimiento de 47%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 8,06-8,02 (2H, m), 7,61-7,44 (3H, m), 6,10-6,01 (1H, m), 5,67-5,64 (1H, m), 5,42 (1H, dt, J = 17,24, 1,34 Hz), 5,32 (1H, dt, J = 10,57, 1,22 Hz), 4,04 (2H, dd, J = 27,32, 11,22 Hz), 3,65 (1H, d, J = 10,24 Hz), 3,53 (1H, d, J = 10,24 Hz), 3,17 (1H, dd, J = 7,32, 5,37 Hz), 3,10-3,06 (1H, m), 2,75 (1H, t, J = 4,39 Hz), 2,60 (1H, dd, J = 4,88, 2,93 Hz), 1,19 (9H, s), 0,55 (4H, s).

(5) Una disolución en tetrahidrofurano (3 mL) de trimetilsililacetileno (1,62 mL, 11,5 mmoles) se puso bajo una atmósfera de nitrógeno y la disolución se enfrió con hielo seco-acetona. A esto se añadió una disolución de hexano de n-butillitio (2,64 M, 3,97 mL, 10,5 mmoles) y la mezcla se agitó durante 45 minutos. A esta mezcla se añadieron una disolución en tetrahidrofurano (6 mL) del compuesto A-21 (846 mg, 2,1 mmoles) obtenido en (4) y complejo de trifluoroborano-dietiléter (0,343 mL, 2,73 mmoles), y la mezcla se agitó durante 2 horas bajo enfriamiento de hielo seco-acetona y se agitó adicionalmente durante 1 hora a 0°C. Se añadió cloruro de amonio acuoso saturado a esto, y la mezcla se devolvió a la temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo. La disolución se lavó de forma sucesiva con carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado y cloruro sódico acuoso saturado, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en metanol anhidro (10 mL), se añadió metóxido sódico (870 mg, 6,3 mmoles) a esto, y la mezcla se agitó bajo calentamiento a 50°C durante 1 hora. Después de enfriar, la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con acetato de etilo, a partir de ahí la mezcla se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 60/40 → 50/50 → 35/65) para obtener compuesto A-22 (311,5 mg, rendimiento de 62%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,57 (1H, ddd, J = 17,00, 11,00, 6,00 Hz), 4,88 (1H, dt, J = 17,00, 1,70 Hz), 4,73 (1H, dt, J = 11,00, 1,70 Hz), 3,85-3,81 (1H, m), 3,51 (1H, ddd, J = 8,42, 5,73, 2,07 Hz), 3,16 (1H, d, J = 9,50 Hz), 3,05 (1H, d, J = 9,50 Hz), 2,85 (2H, dd, J = 4,63, 2,20 Hz), 2,12-1,92 (2H, m), 1,85 (1H, t, J = 2,68 Hz).

(6) El compuesto A-22 (534,4 mg, 2,26 mmoles) obtenido en (5) se disolvió en piridina anhidra (7,5 mL) y, después de la adición de cloruro de pivaloilo (0,276 mL, 2,26 mmoles) a 0°C, la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 45 minutos. Se añadió carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado a la mezcla. La mezcla se diluyó con tolueno y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó para dar el residuo. El residuo se diluyó con diclorometano seco (10 mL), y a la disolución se añadieron 2,6-lutidina (1,1 mL, 9,22 mmoles) y trifluorometanosulfonato de t-butildimetilsililo (1,7 mL, 7,55 mmoles) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 1,5 horas. La reacción se diluyó con acetato de etilo y la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 99/1 → 85/15) para obtener A-23 (1,08 g, rendimiento de 91%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ: 6,00-5,91 (1H, m), 5,21 (1H, d, J = 17,32 Hz), 5,13 (1H, d, J = 11,00 Hz), 4,32 (1H, dd, J = 7,07, 3,90 Hz), 4,03 (2H, dd, J = 19,03, 11,22 Hz), 3,94 (1H, dd, J = 10,73, 5,85 Hz), 3,64 (1H, d, J = 9,76 Hz), 3,45 (1H, d, J = 9,76 Hz), 3,39 (1H, t, J = 4,27 Hz), 2,51 (1H, ddd, J = 16,83, 6,00, 3,00 Hz), 2,36 (1H, ddd, J = 16,71, 6,10, 2,56 Hz), 1,95 (1H, t, J = 2,56 Hz), 1,19 (9H, s), 0,90 (9H, s), 0,88 (9H, s), 0,55-0,48 (3H, m), 0,11 (3H, s), 0,09 (3H, s), 0,06 (3H, s), 0,03 (3H, s).

(7) Usando el compuesto A-23 (70 mg, 0,15 mmoles) obtenido en (6) y el compuesto B-3 (69 mg, 0,16 mmoles) obtenido en el Ejemplo 1 (4) como materiales de partida, la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 1 (5) para obtener el compuesto AB-3 (48,1 mg, 37,4%).

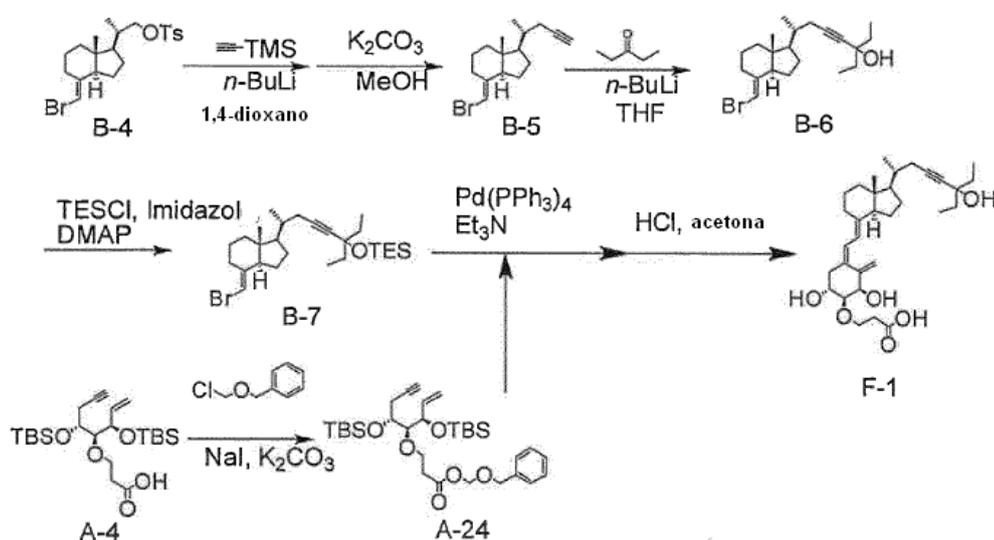
¹H-RMN (CDCl₃) δ: 6,18 (1H, d, J = 10,98 Hz), 6,02 (1H, d, J = 11,47 Hz), 5,32 (1H, s), 5,01 (1H, s), 4,47 (1H, s), 4,03 (1H, q, J = 4,15 Hz), 3,91 (1H, d, J = 9,03 Hz), 3,58 (1H, dd, J = 11,10, 4,03 Hz), 3,46-3,39 (2H, m), 3,32 (1H, d, J = 9,51 Hz), 3,21 (1H, br s), 2,80 (1H, t, J = 7,81 Hz), 2,61 (1H, d, J = 13,42 Hz), 2,24 (1H, dd, J = 16,34, 3,42 Hz), 2,10 (1H, dd, J = 13,66, 4,15 Hz), 2,05-1,84 (4H, m), 1,66-1,49 (12H, m), 1,43-1,30 (4H, m), 1,07 (4H, d, J = 6,59 Hz), 0,98-0,83 (36H, m), 0,82-0,81 (2H, m), 0,70-0,64 (9H, m), 0,57-0,54 (6H, m), 0,51-0,36 (6H, m), 0,11 (3H, s), 0,10 (3H, s), 0,08 (3H, s), 0,07 (3H, s).

(8) Usando el compuesto AB-3 (48,1 mg, 0,056 mmoles) obtenido en (7) como una materia prima, los tratamientos se llevaron a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 1 (6). El producto de reacción (28,5 mg, 0,0327 mmoles) se disolvió en un disolvente mixto de diclorometano anhidro/acetonitrilo (1/1, 1 mL) y la disolución se enfrió a 0°C. A partir de ahí, se añadieron monohidrato de ácido tosílico (31 mg, 0,163 mmoles) y tetrafluoroborato de litio (30 mg, 0,327 mmoles), y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 minutos. A la mezcla de reacción se añadió carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó aproximadamente por cromatografía con gel en sílice de capa fina (acetato de etilo/acetona = 9/1 + 0,5% de ácido acético) y se purificó adicionalmente por HPLC de fase inversa (A = 95% de agua/acetonitrilo; B = 0,5% de agua/40% de metanol/acetonitrilo; B = 85%) para obtener el compuesto E-1 (4,9 mg, rendimiento de 16,6%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ: 6,41 (1H, d, J = 11,22 Hz), 6,01 (1H, d, J = 10,98 Hz), 5,37 (1H, s), 5,08 (1H, d, J = 1,46 Hz), 4,48 (1H, d, J = 2,68 Hz), 4,06-3,82 (2H, m), 3,55-3,25 (2H, m), 2,88-2,60 (2H, m), 2,28-1,54 (13H, m), 1,42-1,20 (10H, m), 1,10-1,08 (1H, m), 1,06 (3H, d, J = 6,59 Hz), 0,91 (3H, d, J = 4,88 Hz), 0,54 (3H, s).

Ejemplo 10

Producción de (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-carboxietoxi)-26,27-dimetil-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto F-1)



- 5 (1) Se disolvió trimetilsililacetileno (1,84 mL, 13,0 mmoles) en 1,4-dioxano (15 mL) y, bajo una atmósfera de argón y enfriamiento con baño de hielo, se añadió a esto en gotas n-butil-litio (disolución en n-hexano 1,59 M, 8,18 mL, 13,0 mmoles) durante 10 minutos. A esto se añadió compuesto B-4 (1,91 g, 4,33 mmoles) disuelto en 1,4-dioxano (10 mL), sintetizándose el compuesto B-4 según el método de Tanaka et al. (Publicación Internacional núm. WO 98/58909), y la mezcla se calentó a reflujo a 110°C durante 24 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió cloruro de amonio acuoso saturado a la mezcla, seguido por agitación. A partir de ahí, la mezcla se extrajo con n-hexano, y la fase orgánica obtenida se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, se secó sobre sulfato sódico anhidro, y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en tetrahidrofurano-metanol (1:1, 20 mL), se añadió carbonato de potasio (718 mg, 5,20 mmoles) a esto, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente toda la noche. Se añadió agua a la mezcla de reacción y, a partir de ahí, la mezcla se extrajo con n-hexano. La fase orgánica obtenida se lavó con cloruro sódico saturado y se secó sobre sulfato sódico anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (n-hexano) para obtener el compuesto B-5 (1,14 g, rendimiento de 89%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ: 5,65 (1H, s), 2,90-2,86 (1H, m), 2,25 (1H, dt, J = 16,6, 3,0 Hz), 2,10-1,88 (5H, m), 1,72-1,25 (9H, m), 1,11 (3H, d, J = 6,6 Hz), 0,58 (3H, s).

- 20 (2) El compuesto B-5 (301 mg, 1,02 mmoles) obtenido en (1) se disolvió en tetrahidrofurano (10 mL) y, bajo una atmósfera de argón y enfriamiento a -78°C, se añadió n-butil-litio (disolución en n-hexano 1,59 M, 0,673 mL, 1,02 mmoles) en gotas a esto, y la mezcla se agitó durante 30 minutos. A esto se añadió 3-pentanona (0,216 mL, 2,04 mmoles) y la mezcla se agitó durante 1 hora con la temperatura mantenida a -78°C. A la mezcla de reacción se añadió cloruro de amonio acuoso saturado y la mezcla se calentó a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo, y la fase orgánica obtenida se lavó con cloruro sódico acuoso saturado y se secó sobre sulfato sódico anhidro. La fase orgánica se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 9/1) para obtener el compuesto B-6 (205 mg, rendimiento de 53%).

- 30 ¹H-RMN (CDCl₃) δ: 6,42 (1H, d, J = 11,2 Hz), 6,02 (1H, d, J = 11,2 Hz), 5,39 (1H, s), 5,10 (1H, s), 4,44 (1H, t, J = 3,9 Hz), 4,11-4,07 (1H, m), 3,84-3,81 (1H, m), 3,75-3,68 (2H, m), 3,39 (1H, dd, J = 7,4, 3,3 Hz), 2,84-2,81 (1H, m), 2,68 (1H, dd, J = 13,7, 4,4 Hz), 2,52 (2H, t, J = 6,8 Hz), 2,29-2,20 (3H, m), 2,15-1,83 (6H, m), 1,70-1,22 (14H, m), 1,08-1,01 (9H, m), 0,55 (3H, s) ppm.

- 35 (3) El compuesto B-6 (396 mg, 1,04 mmoles) obtenido en (2) se disolvió en N,N-dimetilformamida anhidra (4 mL), a esto se añadieron clortriethylsilano (0,283 mL, 1,68 mmoles), imidazol (152 mg, 2,23 mmoles) y 4-dimetilaminopiridina (27 mg, 0,22 mmoles), y la mezcla se agitó bajo calentamiento a 50°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadió metanol anhidro (1 mL) a esto, y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La mezcla se diluyó con tolueno y se lavó con cloruro sódico acuoso saturado. A partir de ahí, la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 90/10) para obtener compuesto B-7 (454,8 mg, rendimiento de 88%).
- 40

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,65 (1H, s), 2,91-2,85 (1H, m), 2,24 (1H, dd, $J = 16,46, 3,54$ Hz), 2,10 (1H, dd, $J = 16,58, 6,83$ Hz), 2,02-1,88 (4H, m), 1,71-1,58 (9H, m), 1,54-1,24 (7H, m), 1,08 (3H, d, $J = 8,00$ Hz), 0,98-0,91 (22H, m), 0,73-0,64 (9H, m), 0,58 (3H, s), 0,52 (2H, q, $J = 7,97$ Hz).

(4) El compuesto A-4 (457 mg, 1 mmol) obtenido en el Ejemplo 2 (1) se disolvió en N,N-dimetilformamida anhidra (5 mL), a esto se añadieron trietilamina (0,421 mL, 3 mmoles) y clorometil-bencil-éter (0,276 mL, 2 mmoles), y la mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora 45 minutos. Se añadió carbonato de hidrógeno y sodio acuoso saturado a esto y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con cloruro sódico acuoso saturado, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y a partir de ahí, se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 95/5) para obtener compuesto A-24 (485 mg, rendimiento de 84%).

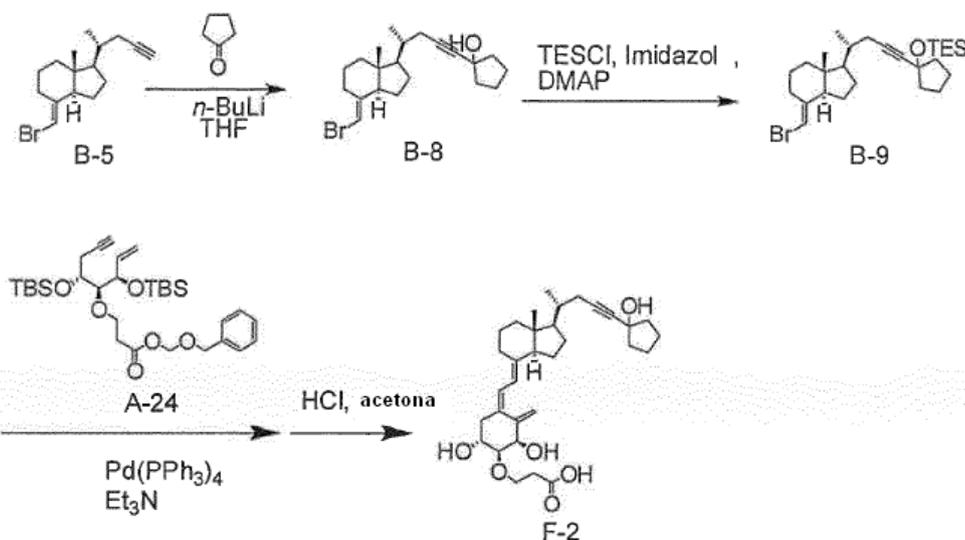
(5) Usando el compuesto B-7 (44 mg, 0,09 mmoles) obtenido en (3) y el compuesto A-24 (43 mg, 0,075 mmoles) obtenido en (4) como materias primas, la reacción de acoplamiento y la reacción de desprotección se llevaron a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 5 (4). El producto de reacción en bruto obtenido se purificó aproximadamente por cromatografía con gel de sílice en capa fina (acetato de etilo/acetona = 4/1 + ácido acético (1,5% de v/v) y se purificó adicionalmente por HPLC de fase inversa (A = 95% de agua/acetonitrilo; B = 0,5% de agua/40% de metanol/acetonitrilo; B = 75%) para obtener compuesto F-1 (4,7 mg, rendimiento de 12%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 6,42 (1H, d, $J = 10,98$ Hz), 6,00 (1H, d, $J = 10,98$ Hz), 5,37 (1H, d, $J = 1,46$ Hz), 5,08 (1H, d, $J = 1,95$ Hz), 4,47 (1H, d, $J = 2,93$ Hz), 4,08-3,94 (2H, m), 3,82-3,74 (1H, m), 3,33 (1H, dd, $J = 8,17, 3,05$ Hz), 2,83 (1H, d, $J = 12,20$ Hz), 2,69-2,60 (3H, m), 2,30-2,20 (2H, m), 1,98 (2H, d, $J = 11,71$ Hz), 1,91-1,80 (1H, m), 1,72-1,24 (16H, m), 1,07 (3H, d, $J = 6,34$ Hz), 1,03 (8H, t, $J = 7,44$ Hz), 0,54 (3H, s).

Ejemplo 11

Producción de (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-carboxietoxi)-26,27-nor-25-ciclopentil-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol (Compuesto F-2)

Fórmula 19



(1) Usando el compuesto B-5 (442 mg, 1,5 mmoles) obtenido en el Ejemplo 10 (1) como un material de partida, la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 10 (2) para obtener una mezcla (427,2 mg) de compuesto B-8 y ciclopentanona. Usando este material en bruto como un material de partida y usando N,N-dimetilformamida anhidra (4,5 mL), clorotriethylsilano (0,283 mL, 1,68 mmoles), imidazol (152 mg, 2,23 mmoles) y 4-dimetilaminopiridina (27 mg, 0,22 mmoles), la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 10 (3) para obtener compuesto B-9 (506,2 mg, rendimiento de 68%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ : 5,65 (1H, s), 2,92-2,85 (1H, m), 2,24 (1H, dd, $J = 16,46, 3,29$ Hz), 2,08 (1H, dd, $J = 16,10, 6,83$ Hz), 2,02-1,57 (19H, m), 1,54-1,26 (7H, m), 1,07 (4H, d, $J = 7,56$ Hz), 0,98-0,91 (15H, m), 0,73-0,63 (8H, m), 0,57 (3H, s), 0,52 (3H, q, $J = 7,97$ Hz).

(2) Usando el compuesto B-9 (44 mg, 0,09 mmoles) obtenido en (1) y el compuesto A-24 (43 mg, 0,075 mmoles) obtenido en el Ejemplo 10 (4) como materiales de partida, la síntesis se llevó a cabo de la misma manera que en el Ejemplo 10 (5) para obtener el compuesto F-2 (2,0 mg, rendimiento de 5%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ: 6,41 (1H, d, J = 10,98 Hz), 6,00 (1H, d, J = 10,98 Hz), 5,36 (1H, s), 5,07 (1H, s), 4,46 (1H, s), 4,10-3,93 (2H, m), 3,78 (1H, br s), 3,30 (1H, d, J = 6,59 Hz), 3,07-2,62 (9H, m), 2,30-2,19 (2H, m), 2,05-1,24 (25H, m), 1,06 (3H, d, J = 6,59 Hz), 0,54 (3H, s).

Ejemplo 12

5 Evaluación de la afinidad a VDR

El VDR se evaluó usando un kit de medida y evaluación comercial, por ejemplo "Ensayo competidor de receptor PolarScreen Vitamin D, Rojo, Núm. Cat. PV4569" comercializado por Invitrogen Corporation, según el siguiente procedimiento.

10 Las disoluciones de los compuestos se añadieron a dos pocillos cada uno de un plato negro de 384 pocillos en alícuotas de 10 µl. A cada pocillo, se añadió Complejo VDR/Fluoromona de VDR incluido en el kit en alícuotas de 10 µl y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de 2 horas, se midió la polarización fluorescente y se evaluó la afinidad a VDR. Además, la afinidad se evaluó en valores relativos (1/X) con la afinidad de 1,25-(OH)2-vitamina D₃ tomada como 1.

Tabla 2

Nombre del compuesto	Afinidad a VDR (1/X)
1,25-(OH)2-vitamina D ₃	1/1
Compuesto C-1	1/0,52
Compuesto D-1	1/0,92
Compuesto E-1	1/2,39
Compuesto F-1	1/1,23
Compuesto F-2	1/1,61

15 Se confirmó que los compuestos obtenidos según la presente invención tienen fuerte afinidad a VDR. Especialmente, se encontró que el Compuesto C-1 y el Compuesto D-1 tienen afinidad a VDR muy fuerte.

Ejemplo 13

Actividad transcripcional de VDR en osteoblasto humano (células HOS)

20 (1) Un vector reportero se construyó insertando la secuencia de la región promotora del gen de ostocalcina humana en la corriente arriba del gen de luciferasa usando un vector pGL3 (Promega Corporation), en donde la región promotora del gen de ostocalcina humana se clonó usando ADNc adquirido de células HOS (compradas de ATCC) por un método conocido en la bibliografía (Ozono et al., The Journal of Biological Chemistry, 265, 21881-21888 (1990)). El vector de expresión se construyó insertando una secuencia de ADN, que codifica VDR humano y RXR humano, en un vector pcDNA3 (Invitrogen Corporation). Las células HOS se incubaron en un medio DMEM que contenía FBS al 10% bajo condiciones de 37°C y 5% de CO₂, y se subcultivaron cada 2 o 3 días.

30 (2) Las células que se han subcultivado se recuperaron por centrifugado y se suspendieron en medio DMEM libre de suero y de rojo de fenol en una densidad de 4 x 10⁵ células/mL. Esto se sembró en un plato de 96 pocillos en una cantidad de 0,1 mL/pocillo. A este sistema, se añadieron varios vectores descritos en (1) en una cantidad de 0,05 mL por pocillo usando Lipofectamina 2000 (Invitrogen Corporation). Después de la incubación a 37°C durante 3 horas, 2 µl de cada una de disoluciones de etanol de los compuestos de ensayo de varias concentraciones o etanol como un control se añadió a cada pocillo. Después de la incubación a 37°C durante 24 horas, el medio se eliminó, las células se lavaron una vez con PBS (-), y a partir de ahí se midió la actividad de luciferasa usando un luminómetro (Berthold Technologies GmbH & Co. KG) usando el Kit de Ensayo de Luciferasa Dual-Glo (Promega Corporation).

35 Como resultado, se encontró que todos los compuestos de la presente invención tienen actividad transcripcional con valores EC₅₀ de 20 nM o menos. Además, se encontró que los Compuestos C-1, C-2, D-1, E-1, F-1 y F-2 poseen actividad transcripcional con valores EC₅₀ de 0,2 nM o menos. Especialmente, se encontró que D-1, F-1 y F-2 tienen actividad transcripcional con valores EC₅₀ de 0,02 nM o menos.

Ejemplo 14

El efecto de mejora de densidad mineral ósea en ratas de modelo de osteoporosis (ooforectomía) (Ensayo Comparativo)

5 Ratas hembra de stock SD de doce semanas de edad (Charles River Japan, Inc.) se sometieron a ooforectomía bilateral y, después de dejarse solas durante 4 semanas, los compuestos de la presente invención y 2 α -(3-hidroxi-3-propil)oxi-1 α ,25-dihidroxitamina D₃ descritos en la Publicación Internacional núm. WO 01/62723 se administraron cada uno 5 veces a la semana durante 4 semanas. Después de 24 horas a partir de la administración final, se recogió sangre bajo anestesia con éter y las ratas se sacrificaron. Bajo anestesia, la densidad mineral ósea de la cuarta y quinta vértebras lumbares se midió usando un analizador mineral óseo de rayos X de energía dual (QDR-2000; Hologic, Inc.). Por comparación, un grupo de cirugía de simulación (simulación) (la operación abdominal se realiza pero el ovario no se elimina; los compuestos de ensayo no se administran) y un grupo de ooforectomía (OVX) (sometido a ooforectomía aunque los compuestos de ensayo no se administran) se sometieron también a medida de la densidad mineral ósea de vértebras lumbares en el momento de la disección. Además, la medida de concentración de calcio en el suero de cada grupo también se realizó.

15 Tabla 3

Ensayo 1

Grupo	Dosis (ng/kg)	Densidad mineral ósea (g/cm ³)	Valor de calcio en suero (mg/dL)
Simulación	-	0,2303 ± 0,0185	9,61 ± 0,16
OVX	-	0,2048 ± 0,0139	9,64 ± 0,22
Compuesto C-1	4	0,2223 ± 0,0118	10,40 ± 1,00
	10	0,2400 ± 0,0065	10,30 ± 0,20

Ensayo 2

Grupo	Dosis (ng/kg)	Densidad mineral ósea (g/cm ³)	Valor de calcio en suero (mg/dL)
Simulación	-	0,2242 ± 0,0121	10,14 ± 0,17
OVX	-	0,2152 ± 0,0166	9,73 ± 0,15
Compuesto C-2	6	0,2196 ± 0,0177	9,83 ± 0,37
	13	0,2308 ± 0,0081	10,19 ± 0,36

20 Ensayo 3

Grupo	Dosis (ng/kg)	Densidad mineral ósea (g/cm ³)	Valor de calcio en suero (mg/dL)
Simulación	-	0,2338 ± 0,0120	9,71 ± 0,27
OVX	-	0,2194 ± 0,0100	9,25 ± 0,11
Compuesto C-5	17	0,2316 ± 0,0134	9,60 ± 0,15
	50	0,2354 ± 0,0126	10,10 ± 0,21

ES 2 541 719 T3

Ensayo 4

Grupo	Dosis (ng/kg)	Densidad mineral ósea (g/cm ³)	Valor de calcio en suero (mg/dL)
Simulación	-	0,2422 ± 0,0130	10,01 ± 0,04
OVX	-	0,2163 ± 0,0100	9,58 ± 0,18
Compuesto C-7	6	0,2322 ± 0,0092	9,83 ± 0,22
	13	0,2548 ± 0,0143	10,07 ± 0,22

Ensayo 5

Grupo	Dosis (ng/kg)	Densidad mineral ósea (g/cm ³)	Valor de calcio en suero (mg/dL)
Simulación	-	0,2252 ± 0,0080	9,82 ± 0,22
OVX	-	0,2115 ± 0,0110	9,53 ± 0,28
Compuesto D-1	6	0,2211 ± 0,0175	9,75 ± 0,10
	13	0,2360 ± 0,0143	10,23 ± 0,26

5 Ensayo 6

Grupo	Dosis (ng/kg)	Densidad mineral ósea (g/cm ³)	Valor de calcio en suero (mg/dL)
Simulación	-	0,2302 ± 0,0110	9,61 ± 0,16
OVX	-	0,2042 ± 0,0070	9,64 ± 0,22
Compuesto D-6	50	0,2365 ± 0,0204	9,76 ± 0,29

Tabla 4

Ensayo 7

Grupo	Dosis (ng/kg)	Densidad mineral ósea (g/cm ³)	Valor de calcio en suero (mg/dL)
Simulación	-	0,2252 ± 0,0080	9,82 ± 0,22
OVX	-	0,2115 ± 0,0110	9,53 ± 0,28
Compuesto F-1	6	0,2366 ± 0,0139	10,12 ± 0,59

10 Ensayo comparativo

Grupo	Dosis (ng/kg)	Densidad mineral ósea (g/cm ³)	Valor de calcio en suero (mg/dL)
Simulación	-	0,2451 ± 0,0251	10,50 ± 0,83
OVX	-	0,2167 ± 0,0126	9,60 ± 0,23
2α-(3-hidroxiopropil)oxi-1α,25-dihidroxi-vitamina D ₃	10	0,2269 ± 0,0161	10,30 ± 0,37
	25	0,2473 ± 0,0157	11,20 ± 0,20

Se confirmó que la densidad mineral ósea del grupo OVX disminuye en comparación con el grupo de cirugía de simulación (simulación) realizando la operación. Además, se confirmó que la densidad mineral ósea se recupera por

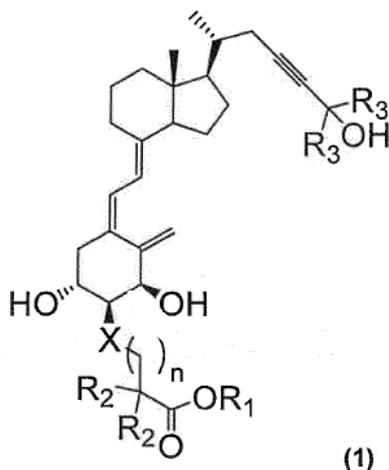
5 administración de derivados de vitamina D. Sin embargo, el grupo que se administró con 2 α -(3-hidroxipropil)oxi-1 α ,25-dihidroxi-vitamina D₃ descrito en la Publicación Internacional núm. WO 01/62723 mostró aumento en el valor de calcio en suero con aumento en la densidad mineral ósea y, a una dosis (25 ng/kg) necesaria para que la densidad mineral ósea se vuelva igual que o mayor que la del grupo de simulación, se encontró que el valor de calcio en suero aumenta significativamente, en 1 mg/dL o más. Por otro lado, se encontró que los compuestos de la presente invención mejoran la densidad mineral ósea a un valor equivalente a o mayor que la del grupo de simulación, mientras que el aumento en el valor de calcio en suero en comparación con el del grupo OVX se encontró en un intervalo de no más de 1 mg/dL.

10 A partir de los resultados descritos anteriormente, se encontró que los derivados de vitamina D₃ o solvatos medicinalmente aceptables de los mismos de la presente invención tienen efectos más excelentes en los huesos que los derivados de vitamina D₃ presentados hasta ahora.

Los derivados de vitamina D₃ o solvatos medicinalmente aceptables de los mismos de la presente invención pueden usarse como fármacos.

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de vitamina D₃ representado por la siguiente fórmula (1) o un solvato medicinalmente aceptable del mismo:



5 en donde

R₁ representa un átomo de hidrógeno, grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquilcarboniloxialquilo con cada alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono, o un grupo arilcarboniloxialquilo con el arilo que tiene 6 a 10 átomos de carbono y el alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono; R₂ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono o, junto con el otro R₂ y el átomo de carbono al que están unidos, puede formar un grupo alquilo cíclico que tiene 3 a 6 átomos de carbono; R₃ representa un grupo alquilo que tiene 1 a 6 átomos de carbono o, junto con el otro R₃ y el átomo de carbono al que están unidos, puede formar un grupo alquilo cíclico que tiene 3 a 6 átomos de carbono; en donde alquilo significa un grupo hidrocarburo alifático lineal, ramificado o cíclico; X representa un átomo de oxígeno o un grupo metileno; y n representa un número entero de 1 o 2.

15 2. El derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en donde X representa un átomo de oxígeno.

3. El derivado de vitamina D₃ o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en donde X representa un grupo metileno.

20 4. El derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde n es 1.

5. El derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde R₂ representa un átomo de hidrógeno.

25 6. El derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R₁ representa un átomo de hidrógeno, un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo isopropilo, un grupo t-butilo, un grupo t-butilcarboniloximetilo o un grupo fenilcarboniloximetilo.

7. El derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde R₂ representa un átomo de hidrógeno y n es 1.

30 8. El derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en donde R₁ representa un átomo de hidrógeno, un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo isopropilo, un grupo t-butilo, un grupo t-butilcarboniloximetilo o un grupo fenilcarboniloximetilo; R₂ representa un átomo de hidrógeno o, junto con el otro R₂ y el átomo de carbono al que están unidos, forma un grupo ciclopropilo; R₃ representa un grupo metilo o un grupo etilo, o R₃, junto con el otro R₃ y el átomo de carbono al que están unidos, forma un grupo ciclopropilo; X representa un átomo de oxígeno o un grupo metileno; y n es 1.

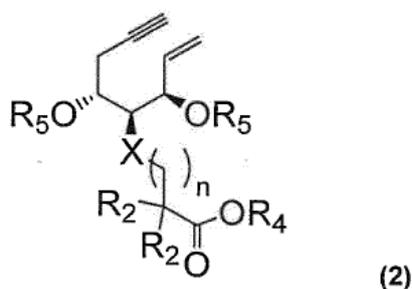
35 9. El derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

(5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-carboxietoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;

(5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-carboxietoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol

- (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-metoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-etoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-propoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-(1-metil)etoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 5 (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-(1,1-dimetil)etoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-((t-butilcarboniloxi)metoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-((fenilcarboniloxi)metoxicarboniletoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1S,2S,3R,20R)-2-(2-carboxipropil)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1S,2S,3R,20R)-2-(2-metoxicarbonilpropil)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 10 (5Z,7E)-(1S,2S,3R,20R)-2-(2-etoxicarbonilpropil)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1S,2S,3R,20R)-2-(2-propoxicarbonilpropil)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1S,2S,3R,20R)-2-(2-(1-metil)etoxicarbonilpropil)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1S,2S,3R,20R)-2-(2-(1,1-dimetil)etoxicarbonilpropil)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-((2-carboxi-2,2-etano)etoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 15 (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-((2-metoxicarbonil-2,2-dimetil)etoxi)-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol;
 (5Z,7E)-(1R,2S,3R,20R)-2-(2-carboxietoxi)-26,27-dimetil-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol; y (5Z,7E)-
 (1R,2S,3R,20R)-2-(2-carboxietoxi)-26,27-nor-25-ciclopentil-23-ino-9,10-seco-5,7,10(19)-colestatrieno-1,3,25-triol

10. Una composición farmacéutica que comprende el derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 11. Un agente terapéutico para una o más enfermedades seleccionado del grupo que consiste en osteoporosis, tumor maligno, psoriasis, hiperparatiroidismo, enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias, artritis reumatoide, diabetes mellitus, hipertensión, alopecia, acné y dermatitis, que comprende el derivado de vitamina D₃ o un solvato medicinalmente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 como un ingrediente activo.
12. El agente terapéutico según la reivindicación 11, en donde la enfermedad es osteoporosis.
- 25 13. Un compuesto representado por la siguiente fórmula (2):



en donde

R₂, X y n son iguales que en la fórmula (1);

- 30 R₄ representa R₁ en la fórmula (1), un grupo metoximetilo, un grupo metoxietoximetilo, un grupo tetrahydrofuranilo, un grupo tetrahydropirranilo o un grupo benciloximetilo; y

R₅ representa un grupo protector para un grupo hidroxilo.